

**ÜBERLEBENSZEIT VON
ALLOGENEN HAUTTRANSPLANTATEN
BEI DER RATTE NACH MAXIMALER
HÄMODILUTION UND MAXIMALER APPLIKATION
VON ANTILYMPHOZYTENGLOBULIN**

Claudia Dorothea Vogt

1976

Aus dem Institut für Chirurgische Forschung
(Prof. Dr. Dr. h.c. W. Brendel)
München

ÜBERLEBENSZEIT VON ALLOGENEN HAUTTRANSPLANTATEN BEI DER RATTE
NACH MAXIMALER HÄMODILUTION UND MAXIMALER APPLIKATION VON
ANTILYMPHOZYTENGLOBULIN

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades der gesamten Medizin
an der Ludwig-Maximilians-Universität München

vorgelegt von
Claudia Dorothea Vogt
aus München

München 1976

Mit Genehmigung des Fachbereichs Medizin der Universität München

Berichterstatter: Professor Dr. Dr. h.c. W. Brendel

Dekan: Professor Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 6. 4. 1976



Handwritten section header.

Handwritten section header.

Handwritten text line.

Handwritten text line.

Handwritten text line.

Handwritten text line.

Handwritten text line.

Meinen lieben Eltern
in Dankbarkeit gewidmet.

Handwritten text line.

Handwritten text line.

Handwritten text line.

Handwritten text line.

Handwritten text line.

Handwritten text line.

Handwritten text line.

Handwritten text line.

Handwritten text line.

Handwritten text line.

Handwritten text line.

Handwritten text line.

Handwritten text line.

Handwritten section header.

Handwritten text line.

Handwritten text line.

Handwritten text line.

Handwritten text line.

Handwritten text line.

Handwritten text line.

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
1. EINLEITUNG	1
2. METHODIK	3
2.1. Versuchstiere	3
2.2. Herstellung des verwendeten ALG	3
2.2.1. Antigengewinnung	3
2.2.2. Immunisierung	4
2.2.3. Serumgewinnung	4
2.3. Herstellung des verwendeten KNGs	4
2.4. Testung der Immunglobuline in vitro	5
2.4.1. Hämagglutinationstiter	5
2.4.2. Lymphotoxizität	5
2.4.3. Gesamtproteingehalt	5
2.4.4. Eiweißfraktionen	5
2.5. Narkose und operatives Vorgehen	6
2.6. Technik	6
2.6.1. der Dosisversuche	6
2.6.2. der Hämodilutionsversuche	7
2.7. Hauttransplantation an der Ratte	8
2.8. Gruppeneinteilung	9
2.8.1. Dosisversuche	9
2.8.2. Transplantationsversuche	9
2.9. Statistik	10
3. ERGEBNISSE	11
3.1. In vitro Untersuchungen der γ -Globuline	11
3.1.1. Hämagglutinationstiter	11
3.1.2. Zytotoxische Titer	11
3.1.3. Gesamtprotein	11
3.1.4. Papierelektrophorese	11
3.1.5. Zusammenfassung	11

	Seite
3.2. Dosisversuche: Toleranzgrenzen für die verwendeten Blutersatz- lösungen	12
3.2.1. Überleben	12
3.2.2. Hämatokritwerte	13
3.3. Überlebensraten innerhalb der transplan- tierten Kollektive	13
3.4. "Stepwise dilution" mit Dextran 60	15
3.4.1. Hämatokritverlauf	15
3.4.2. Proteinfraaktionsverlauf	16
3.5. Überlebenszeit von allogenen Hauttrans- plantaten	21
3.5.1. nach einmaliger ALG-Applikation	21
3.5.2. nach HD mit oder ohne ALG-Zufuhr	25
3.5.3. bei Kortikoid- und ALG-Therapie	27
3.5.4. Zusammenfassende Darstellung der Versuchsgruppen	29
 4. DISKUSSION	 32
4.1. Methodik	32
4.2. Ergebnisse	32
4.2.1. Dosisversuche	32
4.2.2. Hämodilution	33
4.2.2.1. allgemeine Wirkung	33
4.2.2.2. Dextranwirkung	38
4.2.2.2.1. Verbesserte Mikro- zirkulation	38
4.2.2.2.2. Wirkungen auf das Immunsystem	39
4.2.3. ALG	42
4.2.3.1. allgemeine Wirkung	42
4.2.3.2. Applikationsmodus	43
4.2.3.3. Dosierungsmodus	44

	Seite
4.2.4. Prednisolon	46
5. ZUSAMMENFASSUNG	49
6. LITERATURVERZEICHNIS	51
7. ANHANG	
7.1. Danksagung	69
7.2. Lebenslauf	70

VERZEICHNIS DER TABELLEN UND ABBILDUNGEN

Seite

Tabellen

1. Therapieschema für die Dosisversuche	9
2. Einteilung der transplantierten Gruppen	9
3. Testergebnisse der verwendeten Globuline	12
4. Hämatokrit und Überlebenszeit der Vorversuche	13
5. Überlebensrate der Dilutionsversuche	14
6. Elektrophoresewerte vor und nach akuter HD	17
7. Hämatokritwerte vor und nach akuter HD	16
8. Überlebenstage der Hauttransplantate	22
9. MTÜZ und Signifikanz	23
10. Zahl der überlebenden Ratten nach HD aus Elb, S.; Arturson, G.	35

Abbildungen

1. Überlebensrate der Tiere bis zur Abstoßung	15
2. Hkt-Verlauf bei akuter HD	18
3. Prozentuale Verteilung der Plasmaproteine bei "stepwise" hämodilution	19
4. Verlauf der relativen Proteinfractionen im Vergleich zum Hämatokritwert	20
5. Transplantationsüberlebenszeiten der Gruppen A, B, C	24
6. Transplantationsüberlebenszeiten der Gruppen D, E, F, G	26
7. Transplantationsüberlebenszeiten der Gruppen H, I	28
8. Relative Transplantatverlängerung	30
9. MTÜZ der Gruppen A, B, C, D, E, F, G, H, I	31

Abkürzungen

AK	Antikörper
ALG	Antilymphozyten-Globulin
ALS	Antilymphozytenserum
B-Zellen	kurzlebige Lymphozyten ("bursa dependent")
HAT	Hämagglutinations-Titer
HD _M	Hämodilution mit Macrodex
HD _P	Hämodilution mit Rattenplasma
Hkt	Hämatokritwert
KG	Körpergewicht
LD _n	Letalitätsdosis (n%)
KNG	Kaninchennormalglobulin
MTÜZ	Mittlere Transplantatüberlebenszeit
p	Signifikanzkoeffizient
RHS	Reticulohistiozytäres System
s $\bar{x}$	Standardabweichung des Mittelwertes
T-Zellen	langlebige Lymphozyten ("thymus dependent")
$\bar{x}$	Mittelwert

1. EINLEITUNG

Das Antilymphozytenglobulin (ALG) hat in der klinischen, immunsuppressiven Therapie heute bereits einen festen Platz eingenommen (22, 25, 24). Vor allem bei der Therapie organtransplan- tierter Patienten (18, 106) und bei der Therapie von Autoimmun- erkrankungen (42, 145, 23, 128) hat es vielfach Verwendung ge- funden. Auch in der Ophthalmologie wurde ALG bei der Behandlung der Sympatischen Ophthalmie und bei Hornhauttransplantationen mit Erfolg angewandt (55, 87). Verschiedene Nebenwirkungen, so z. B. anaphylaktische Reaktionen, Serumkrankheit, Urtikaria, Fieber erschweren die Anwendung von ALG in der Klinik (127). Es lag daher nahe, nach weiteren Möglichkeiten zu suchen, die ALG-Thera- pie für Arzt und Patient zu vereinfachen und die unerwünschten Effekte zu reduzieren.

Ebenso hat sich die Hämodilution in der Klinik zunehmende Indika- tionsbereiche erschlossen; so z. B. in der Therapie von Blutver- lusten, Schockzuständen, Fällen von Polycythämie, Leberkoma, Koh- lenmonoxid-Vergiftung, bei Fällen von Blutunverträglichkeit (112, 80, 81, 82, 150, 1, 35, 133) aber auch bei Herzoperationen wäh- rend eines extrakorporalen Kreislaufsystems unter Hypothermie (100). Die akute präoperative Hämodilution und folgende Auto- transfusion eröffnete eine neuartige Alternative zu homologen Bluttransfusionen (81, 83), die bekanntlich mit erheblichen Risi- ken für den Patienten verbunden sind.

Die Erkenntnis, daß durch Hämodilution die Anzahl von immunkom- petenten Strukturen eines Organismus deutlich verringert wird (54), ließ eine bessere ALG-Verträglichkeit und -Wirkung erwar- ten. In der vorliegenden Arbeit sollte deshalb auch die Kombina- tion von ALG und Hämodilution untersucht werden.

Folgende Fragestellungen wurden am Modell der allogenen Haut- Transplantation bei der Ratte bearbeitet:

1. Wie hoch ist die maximal tolerable Einzeldosis für ALG bei der Ratte? •

2. Lassen sich die gefundenen Wirkungen und Dosen durch zusätzliche Maßnahmen noch steigern?
3. Wie wirkt die Hämodilution, im speziellen Falle mit Dextran auf die Überlebenszeit von allogenen Hauttransplantaten?
4. Bringt die einmalige Maximal-Applikation von ALG über einen "Depoteffekt" eine verlängerte Überlebenszeit von allogenen Hauttransplantaten im Vergleich zu mehrmaligen, submaximalen Dosen?
5. Ist es möglich, durch die Kombination von Hämodilution und maximaler ALG-Applikation deren Einzeleffekte auf die Immunsuppression zu addieren oder sogar zu potenzieren?

2. METHODIK

2.1. Versuchstiere

Die Versuche wurden an 240 - 280 g schweren männlichen Ratten durchgeführt. Als Spender dienten schwarze BD VI Inzuchtratten als Empfänger entweder Tiere der koloniegezüchteten Stämme Sprague-Dawley* oder Wistar AF/Han (ein Auszuchtstamm des Zentralinstituts für Versuchstierzucht Hannover). Letztere wurden bei den Hämodilutionsversuchen wegen ihrer besseren Dextranverträglichkeit verwendet.

Die Tiere wurden zunächst in Sammelkäfigen bei konstanter Raumtemperatur gehalten und hatten freien Zugang zu Wasser und einem Standardfutter. ** Postoperativ kamen die Tiere in Einzelkäfige.

2.2. Herstellung des verwendeten ALGs

2.2.1. Antigengewinnung

Zur Immunisierung der Kaninchen wurde vor lebenden Ratten (KG: 220 - 250 g) in Chloralhydratnarkose entweder Gewebe aus den Lymphknoten des Mesenteriums und der Inguinalregion, oder aus dem Thymus gewonnen. Das lymphatische Gewebe wurde in Hank'scher Lösung *** suspendiert, in einem Glashomogenisator (potter Elvigham) zerkleinert und anschließend bei 100 g 20 Minuten zentrifugiert. Das Sediment daraufhin resuspendiert und erneut zentrifugiert. Dieser Vorgang wurde zweimal wiederholt, um etwaiges Fett- und Bindegewebe zu entfernen.

* Tierzucht Bäumler, Wolfratshausen

** Atromin^R Trockenfutter

*** Hank'sche Lösung: NaCl 8,0; KCl 0,4; $MgSO_4 \times 7 H_2O$ 0,1; $MgCl_2 \times 6 H_2O$ 0,1; $CaCl_2 \times H_2O$ frei 0,14; $NaHPO_4 \times 2 H_2O$ 0,06; KH_2PO_4 0,06; Glucose 1,0; aqua dest. ad 1000,0.

2.2.2. Immunisierung

Wenige Stunden nach Aufbereitung der Zellen wurden Kaninchen (Landrasse) mit einer Suspension von 10^9 Zellen i. v. (Ohrvene) grundimmunisiert. Im Abstand von 14 Tagen erfolgte eine Zweitinjektion mit der gleichen Anzahl von Zellen. Durch Herzpunktion wurden die Tiere 7 Tage nach der Boosterinjektion entblutet; ("Two pulse procedure" nach Levey und Medawar (102)).

2.2.3. Serumgewinnung

Das ALS wurde abzentrifugiert, gepoolt und zur Inaktivierung des Komplementes im Wasserbad bei 56°C 30 min. lang inkubiert.

Um die antierythrozytären Antikörper zu eliminieren, wurde das Serum mit gewaschenen Rattenerythrozyten zweimal 30 Minuten im Verhältnis 1 : 4 mit dem Kaninchen ALS inkubiert und die γ -Globulinfraktion mit Ammoniumsulfat nach der Methode von Dietzel (46) ausgefällt.

Hierbei wurde das gewonnene Serum mit gesättigter Ammoniumsulfatlösung gemischt. Nach Erreichen eines Sättigungsgrades von 45 Vol % Ammoniumsulfat sank die Löslichkeit der Globuline deutlich ab, da durch die Verdünnung der Lösung eine Veränderung der Ionenstärke des Systems eintrat. Der γ -Globulin-Anteil fiel in seiner Gesamtheit aus, die β -Globuline zum Teil. Nach Trennung des Niederschlags vom restlichen Ammoniumsulfat durch ein Dialyseverfahren wurde die gewünschte Proteinkonzentration eingestellt.

Im Anschluß an die Fraktionierung der γ -Globuline erfolgte Filtration durch $6\text{ }\mu$ Filter und sterile Verpackung.

2.3. Herstellung des verwendeten KNGs

Zu diesem Zweck wurden 10 unbehandelte Kaninchen entblutet, das Serum abzentrifugiert, ebenfalls durch Ammoniumsulfatfällung frak-

tioniert, steril filtriert und ampulliert. Das KNG wurde als Kontrolle zu den ALG-Versuchen in den Gruppen b, B, F verwandt.

2.4. Testung der Immunglobuline in vitro

2.4.1. Hämagglutinationstiter nach Campbell (29)

Eine 1 %ige Erythrozyten-Kochsalzlösung diente hierbei als Antigen. Sie wurde mit verschiedenen ALG-Verdünnungen (hergestellt in einer geometrischen Reihe 1 : 1, 1 : 2, 1 : 4, usw.) versetzt. Nach einer Inkubation von 90 min. bei 37° C wurde je ein Tropfen der einzelnen Röhrchen auf Objektträger pipettiert und unter dem Mikroskop auf Agglutinate untersucht. Die Titerhöhe bestimmte die Verdünnung desjenigen Röhrchens, das als letztes noch eine erkennbare Agglutination zeigte.

2.4.2. Lymphotoxizität nach Kabat und Mayer (77)

Das zu testende Antiserum wurde nach einer geometrischen Reihe verdünnt und mit einer Lymphozytensuspension 30 min. bei 37° C im Verhältnis 1 : 1 inkubiert. Anschließend wurde Meerschweinchenkomplement hinzupipettiert, sowie mit 1 %iger Trypanblaulösung versetzt. Nach erneuter Inkubation für 30 min. bei 37° C wurden die Zellen auf ihre Blauverfärbung hin untersucht. Als Titer wurde diejenige Verdünnung angegeben, die gegenüber den Kontrollen einen eindeutig höheren Prozentsatz an gefärbten Zellen aufwies.

2.4.3. Gesamtproteingehalt mit der Biuretmethode nach Weichselbaum (151).

2.4.4. Eiweißfraktionen mittels der Papierelektrophorese nach Grassmann, Hannig (59).

2.5. Narkose und operatives Vorgehen

Während der gesamten Versuchsdauer wurde den Tieren aller Gruppen entweder über einen Verdampfer ein Äther-Luftgemisch nach der Methode von Ben, Strobel (13, 137) oder reiner Sauerstoff zugeführt. Die Narkosedauer lag zwischen 30 und 90 Minuten.

Nach Fixation in Rückenlage und einem frontomedialen Hautschnitt am Hals konnten die Vena jugularis, sowie die Arteria carotis freigelegt werden. Beide Gefäße wurden distal abgebunden und mit jeweils einem 1 mm dicken Polyäthylenkatheter kanüliert, der durch zwei Haltefäden gesichert und an einen Dreivegehahn angeschlossen war. Anschließend wurde das gewünschte Blutvolumen aus der Arteria carotis (3 ml pro Minute) abgenommen. Die Infusion der in Frage kommenden Flüssigkeiten erfolgte über einen Wärmeaustauscher mit 37° C durch eine Infusionspumpe *, die einen konstanten Flow von 1 ml pro Minute gewährleistete.

Nach Beendigung des Volumenaustausches wurden die Katheter entfernt, die beiden Gefäße mit Seidenfäden (Nr. 60) ligiert und die Haut mit Leinenzwirn Nr. 80 vernäht.

2.6. Technik

2.6.1. Dosisversuche

Das bei Ratten durch einmaligen Aderlaß maximal ersetzbares Blutvolumen war zu ermitteln. Hierzu wurden den Tieren in den Vorversuchen unterschiedliche Blutmengen entzogen und dann durch die jeweiligen Plasmaersatzmittel wieder ersetzt; (single-step dilution). Der gefundene Grenzwert lag bei ca. 30 % des berechneten Gesamtblutvolumens.

Diese Blutmenge wurde je 5 Tieren aus der A. carotis entnommen und gleiche Volumina folgender Substanzen über die V. femoralis

* Fa. B. Braun, Melsungen

infundiert:

Gruppe a: Dextran 60⁺

Gruppe b: KNG $\hat{=}$ 1400 mg/kg KG

Gruppe c: ALG $\hat{=}$ 1400 mg/kg KG

Zur Bestimmung der LD₁₀₀ von ALG wurde in weiteren Versuchen die Dosis reduziert und je 2 Tieren nach entsprechendem Aderlaß 1200, 1000, 800, 600, oder 400 mg ALG pro kg Körpergewicht zugeführt.

2.6.2. Hämodilutionsversuche

Um die maximale Einzeldosis von 400 mg ALG pro kg Körpergewicht noch zu steigern, wurden folgende Hämodilutionsversuche durchgeführt:

Über den Dreiwegehahn wurde aus der A. carotis 1 ml Blut pro 100 g KG entzogen und sofort nach Entnahme durch die gleiche Menge normothermen Plasmas bzw. Macrodex-Lösung ersetzt. Dieser Schritt wurde in Abständen von jeweils 10 Minuten wiederholt (stepwise dilution) und dabei der Hkt-Wert gemessen; (Mikrozentrifugation, 5 min. bei 5000 U/min.). Nach fünf derartigen Vorgängen betrug der Hkt-Wert etwa 10 % (51, 108).

Nach Erreichen des Hkt-Tiefstwertes ist den Tieren der Gruppen F und G noch zusätzlich diejenige Blutmenge entnommen worden, die anschließend durch KNG bzw. ALG ersetzt werden sollte, um sie volumenmäßig nicht zu überlasten. Da hierbei jedoch die Hkt-Werte unter den kritischen Wert von 10 % sanken, erhielten die Ratten eigene gewaschene Erythrozyten (0,1 ml/kg KG) reinfundiert (Hkt ca. 25 %; s. Tab. 5). Nach dem auf Seite 6 beschriebenen Wundverschluß wurde ihnen noch über 30 Minuten reiner Sauerstoff zugeführt. Anschließend kamen sie zur weiteren Beobachtung in Einzelkäfige.

* 6 % Macrodex^(R), Fa. Knoll, Ludwigshafen

2.7. H a u t t r a n s p l a n t a t i o n a n d e r R a t t e

Die allogene Hauttransplantation erfolgte im Durchschnitt 8 Stunden nach der Dilution, ebenfalls in Äthernarkose (s. S. 6). Als Empfängertiere dienten weiße Sprague-Dawley-, bzw. Wistarratten, als Spender schwarze BD VI Inzuchtratten.

Den Empfängern und Spendern wurden aus der vollständig enthaarten * und desinfizierten Rückenhaut mit einer Lochzange zwei kreisförmige Hautstücke von 1,5 cm Durchmesser ausgestanzt und von subkutanem Gewebe befreit. Zur Kontrolle wurde der rechte Hautlappen des Empfängers als Autotransplantat mit einem Gewebeklebstoff (Histoacryl**) links eingepflanzt. Ein gleichgroßes Spendertransplantat wurde auf den rechten Hautdefekt ebenso aufgeklebt. Bis zum 10. postoperativen Tag wurden die Transplantate durch ein feinmaschiges Fliegengitter, in Form eines Verbandes geschützt (66).

Die Abstoßungsreaktion wurde makroskopisch beurteilt. Schwarzfärbung, Verhärtung und Beginn der Randablösung legten den Abstoßungstag fest.

* Pilca, Olivin, Wiesbaden

** Histoacryl-N-blau, F. Braun, Melsungen

2.8.2. Transplantationsversuche

Den Tieren aller 9 Gruppen (s. Tab. 2) wurde Haut von BD VI Ratten transplantiert und die mittlere Transplantatüberlebenszeit (MTÜZ) bestimmt.

- Gruppe A: Die Hauttransplantation erfolgte hier an unbehandelten Sprague-Dawley Tieren.
- Gruppe B + C: Sprague-Dawley Ratten wurden im einmaligen Austausch (single step dilution) mit 400 mg/kg KG KNG (B) bzw. ALG (C) diluiert (s. S. 6).
- Gruppe D + E: Wistar Ratten wurden entweder mit Rattenplasma (D) oder Dextran 60 (E) stufenweise bis zum Hkt 10 % hämodiluiert (stepwise dilution) (s. S. 7).
- Gruppe F + G: Nach der Hämodilution bis Hkt 10 % wurden Wistar Ratten mit 400 mg/kg KG KNG (F), bzw. 400 mg/kg KG ALG (G) diluiert und zusätzlich wurden ihnen 0,1 ml/kg KG gewaschene Erythrozyten reinfundiert (s. S. 7).
- Gruppe H + I: Die Tiere wurden mit 2 x 4 mg/kg KG Decortin (H), bzw. 2 x 4 mg/kg KG Decortin + 1200 mg/kg KG ALG vorbehandelt (ALG-Gabe nach der single step dilution s. S. 6).

2.9. S t a t i s t i k

In Text und Tabellen wird der am Kollektiv gewonnene Mittelwert ($\bar{x}$) sowie häufig die Standardabweichung des Mittelwertes ($s\bar{x}$) angegeben. Wurden die Ergebnisse zweier Gruppen verglichen, so erfolgte die Signifikanzprüfung mittels des t-Testes nach STU-DENT.

3. ERGEBNISSE

3.1. In vitro Untersuchungen der γ -Globuline

3.1.1. Hämagglutinationstiter (HAT)

Unmittelbar nach der ALS-Gewinnung ergab der Hämagglutinationstiter bei der serologischen Untersuchung den Wert von 1 : 128. Nach der zweimaligen Absorption mit Rattenerythrozyten konnten die erythrozytären Antikörper bis auf einen Titer von 1 : 4 eliminiert werden. Das Kaninchennormalglobulin zeigte keine antierythrozytären Eigenschaften.

3.1.2. Zytotoxische Titer (CTT)

Der zytotoxische Titer des Antilymphozytenglobulins gegen Rattenlymphozyten betrug 1 : 64; beim Kaninchennormalglobulin war er negativ.

3.1.3. Gesamtprotein

Für das Gesamtprotein des Antilymphozytenglobulins ergaben sich 5,3 g %, für das Kaninchennormalglobulin 5,0 g %.

3.1.4. Papierelektrophorese

Die elektrophoretisch aufgetrennten Proteinanteile verteilten sich zu 5 % auf α -, zu 12 % auf β - und zu 83 % auf γ -Globuline. Beim KNG betrug der γ -Globulinanteil 77 %, der α - 3 %, der β - 20 %.

3.1.5. Zusammenfassung

Tab. 3

Globulin	HAT	CTT	Gesamt- protein (g%)	α - Globulin (%)	β - Globulin (%)	γ - Globulin (%)
KNG	-	-	5,0	3	20	77
ALG	1 : 4	1 : 64	5,3	5	12	83

3.2. Dosisversuche: Toleranzgrenzen für die verwendeten Blutersatz- lösungen

3.2.1. Überleben

Das maximal in einem Schritt entzogene Blutvolumen, das durch Dextran 60, bzw. KNG oder ALG ersetzt wurde, betrug 30 % des Gesamtblutvolumens.

In dieser Dosierung, der 1440 mg pro kg KG Dextran 60 und 1400 mg pro kg KG KNG entsprach, überlebten die Tiere der Gruppen a und b den isovolämischen Blutersatz langfristig, während die Letalität der Versuchstiere in der Gruppe c, die eine der KNG entsprechende ALG-Dosis erhielten, 100 % betrug. In den folgenden Gruppen d, e, f, g, bei denen die ALG-Dosis stufenweise vermindert wurde, überlebten die Ratten die einmalige ALG-Applikation ebenfalls nur kurzfristig, zwischen 6,5 und 11,0 Stunden.

Bei 400 mg ALG pro kg KG überlebten dagegen alle Tiere die "single step dilution" (s. S. 6) langfristig.

3.2.2. Hämatokritwerte

Die Ausgangshämatokritwerte der Ratten in den oben genannten Versuchsgruppen schwankten zwischen 42,0 % und 46,6 %. Während der Hämatokrit in den Gruppen a, b, c, am Ende der isovolämischen Dilution auf die Werte 25,8 und 25,6 % sank, lag der Hämatokrit-tiefstwert in den Gruppen d, e, f, g, h gemäß der entsprechend geringeren Blutverdünnung zwischen 28,5 % (Gruppe d) und 41,1 % (Gruppe h).

Tab. 4 Vergleich von Körpergewicht, Hämatokritausgangswert, Hämatokrit-Tiefstwert und der Überlebenszeit bei "single step dilution" von verschiedenen Blutvolumina durch Dextran (a), KNG (b), ALG (c, d, e, f, g, h)

Gruppe	n	KG (g)	Hkt (%)	Hkt (%)	Überlebenszeit (n) Stunden
a	5	330,0 ± 4,2	46,6 ± 0,8	25,8 ± 0,7	langfristig
b	5	322,0 ± 4,6	45,0 ± 0,7	25,8 ± 0,8	langfristig
c	5	299,0 ± 6,4	44,0 ± 0,9	25,6 ± 0,5	6,0 ± 1,1
d	2	287,5 ± 2,5	42,5 ± 0,5	28,5 ± 0,5	6,5 ± 0,5
e	2	300,0 ± 5,0	42,0 ± 2,0	32,0 ± 0,0	9,0 ± 1,0
f	2	277,5 ± 2,5	44,0 ± 1,0	40,0 ± 1,0	8,0 ± 3,0
g	2	290,0 ± 20,0	45,0 ± 1,0	41,0 ± 1,0	11,0 ± 1,9
h	5	255,0 ± 3,4	45,3 ± 0,6	41,1 ± 0,5	langfristig

3.3. Überlebensraten innerhalb der transplantierten Kollektive (s. Tab. 5 und Abb. 1)

Den Zeitpunkt der Transplantatabstoßung erlebten alle Tiere in den Gruppen A (unbeh.), B (400 mg KNG pro kg KG) und C (2 x 4 mg Decortin), das ergibt eine Überlebensrate von 100 %. Dieser Wert wurde in keiner der übrigen Versuchsgruppen erreicht. Das Kollektiv J (2 x 4 mg Decortin + 1200 mg ALG pro kg KG) zeigte mit einer Überlebensrate von nur 40 % die höchste Mortalität.

Während in den Gruppen E, G und J noch Tiere im Zeitraum zwischen dem Tag der Hauttransplantation und dem der Transplantatabstoßung nämlich 7,2 %, 7,2 % und 10,0 % starben, überlebten jene der Gruppen A, B, C, D, F und H die Hauttransplantation langfristig (s. Abb. 1). Die zugehörigen Hämatokritmittelwerte am Ende des Volumenaustausches sind der Tabelle 5 zu entnehmen.

Tab. 5 Anzahl, Körpergewicht, Hämatokrit_E und Überlebensrate von Ratten, denen nach schrittweiser isovolämischer Dilution allogene Haut transplantiert wurde.
(Hkt_E = Hkt % am Ende des Volumenaustausches)

Gruppe	n	KG (g)	Hkt _E (%)	Überlebensrate (%)
A	10	258,0 ± 5,2	45,3 ± 0,4	100
B	10	265,0 ± 4,7	41,9 ± 0,6	100
C	13	255,0 ± 3,4	41,1 ± 0,5	77
D	11	231,0 ± 4,9	10,6 ± 0,3	73
E	28	245,8 ± 2,8	10,5 ± 0,2	64
F	23	251,8 ± 2,0	24,7 ± 0,9	77
G	29	257,5 ± 3,2	26,1 ± 0,9	52
H	10	246,1 ± 4,1	43,8 ± 0,7	100
I	10	250,7 ± 7,3	25,3 ± 1,2	40

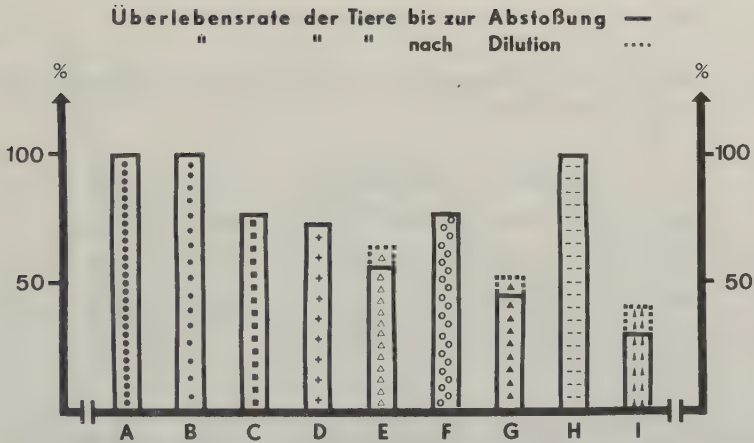


Abb. 1 Überlebensraten der Transplantationskollektive. Die gestrichelten Linien geben den Anteil der Tiere an, die die Dilution überlebten, aber nach der Transplantation verstarben. Die schwarzen Linien zeigen den Anteil der Tiere, die den Zeitpunkt der Transplantatabstoßung überlebten.

3.4. "Step wise dilution" mit Dex - t r a n 60

3.4.1. Hämatokritverlauf

Während der HD sank der Hämatokrit im Mittel innerhalb von 50 Minuten von 43,9 % auf 10,5 %, den Hkt-Tiefstwert. Von diesem Wert aus stieg er nach der Dilution wieder langsam an. Nach 8 Stunden betrug er 12,5 %, nach einem Tag 15,0 %, nach drei und sieben Tagen 20 % und 35,7 % bis er nach 13 Tagen mit 40,2 % den Ausgangswert beinahe erreicht hatte (s. Tab. 7 und Abb. 2).

Der mittlere Fehler der Mittelwerte lag zwischen 0,2 und 1,0.

3.4.2. Verhalten der relativen Proteinfraktionen

Tab. 6 Verhalten der elektrophoretisch getrennten Proteinfraktionen an 4 Meßpunkten

Zeit	n	Albumin (%)	α -Globulin (%)	β -Globulin (%)	γ -Globulin (%)
0 min	10	59,7 $\pm$ 2,2	7,3 $\pm$ 0,9	12,4 $\pm$ 0,8	20,6 $\pm$ 1,5
8 h	10	71,7 $\pm$ 2,1	5,7 $\pm$ 0,8	8,8 $\pm$ 0,9	13,5 $\pm$ 1,1
3 d	5	51,0 $\pm$ 1,0	14,3 $\pm$ 2,7	12,6 $\pm$ 1,9	22,0 $\pm$ 5,1
7 d	5	58,8 $\pm$ 3,0	6,4 $\pm$ 0,4	11,0 $\pm$ 1,2	23,8 $\pm$ 2,2

Zum Zeitpunkt 0 betrug die Albuminfraktion 59,7 %, stieg nach 8 Stunden auf 71,7 % und kehrte innerhalb von 7 Tagen nach der Hämodilution annähernd auf den Ausgangswert von 58,8 % zurück (s. Tabelle 6).

Sämtliche Globulinfraktionen fielen im Gegensatz zum Albumin innerhalb der ersten 8 Stunden ab, die γ -Globuline stiegen vom 8-Stundenwert kontinuierlich an, während die α -Globuline eine steile, die β -Globuline eine deutlich flachere Steigung zeigten (s. Abb. 3 und 4).

Der höchste Albuminanteil fand sich 8 Stunden, derjenige für das γ -Globulin 7 Tage nach der Dilution. Hingegen wurden beim α - und β -Globulin die Höchstwerte 3 Tage nach dem Hämatokrittieftwert gemessen.

Nur der Verlauf der γ -Globuline zeigte im Vergleich zu den entsprechenden, relativen Hämatokritwerten ein paralleles Verhalten.

Tab. 7 Veränderung der Hämatokriteinzelwerte während und nach der schrittweisen Hämodilution mit Macrodex

Nr.	KG	Hkt während d. Hämodilution (%)						Hkt nach d. Hämodilution (%)					
		0	10'	20'	30'	40'	50'	8 h	1 d	3 d	7 d	13 d	
1	270	44	41	37	22,5	15	11	14	15,5	20	35	39	
2	274	46,5	40	34	22	15	11	13,5	14	19	35	39,5	
3	285	48	39	33	21,5	13,5	9	10	13	21	39	41,5	
4	295	44	42	32	20,5	16	10	13	16	22	36	43	
5	223	40	40	32	20,5	16	9	10	12	17	31	35	
6	235	45	38	37	24	16	10	13	17	19,5	34	39	
7	207	37,5	43	36	17,5	14,5	10	12	14,5	20,5	37	41	
8	234	46	42	35	23,5	15	11	14	18	20	33	39	
9	215	43	42	33	21,5	16,5	10	13	15	18	36	41	
10	222	45	43	36	22	14	9,5	12,5	15	23	41	44	

$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$ 246 $\pm$ 10,1 43,9 $\pm$ 1,0 41 $\pm$ 0,5 34,5 $\pm$ 0,6 21,6 $\pm$ 0,6 15,2 $\pm$ 0,3 10,5 $\pm$ 0,2 12,5 $\pm$ 0,6 15 $\pm$ 0,6 20 $\pm$ 0,6 35,7 $\pm$ 0,9 40,2 $\pm$ 0,8

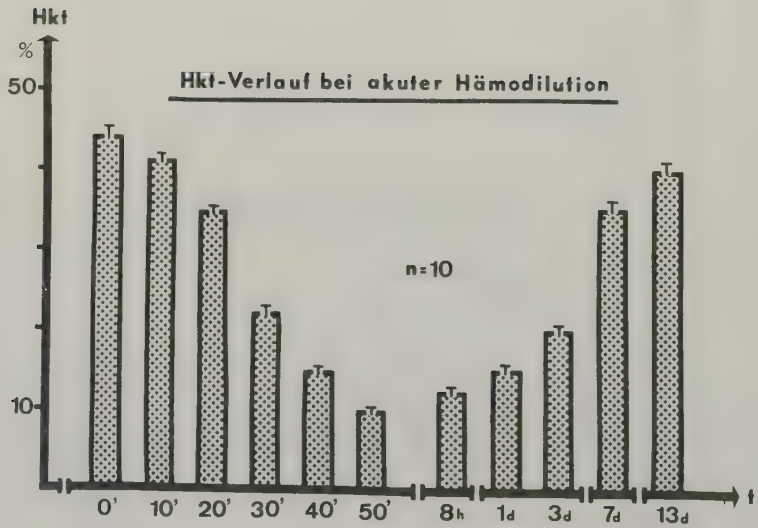


Abb. 2 Verlauf der Hämatokritmittelwerte bei der schrittweisen Hämodilution (stepwise dilution)

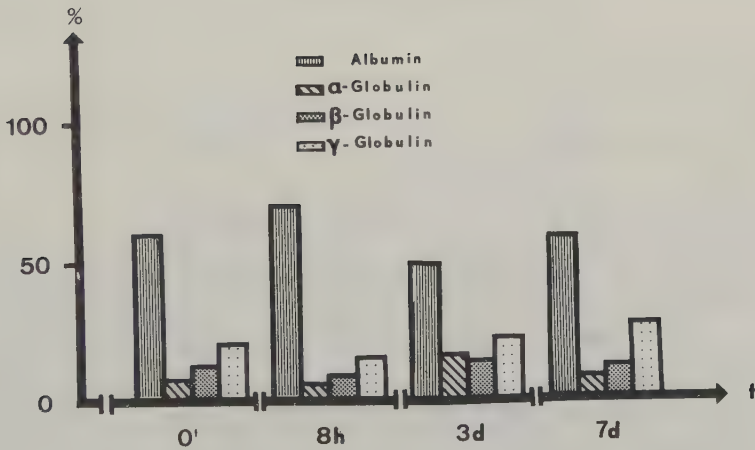


Abb. 3 Prozentuale Verteilung der Plasmaproteine bei schrittweiser Hämodilution.
(100 % entsprechen der Konzentration des Gesamtproteins.)

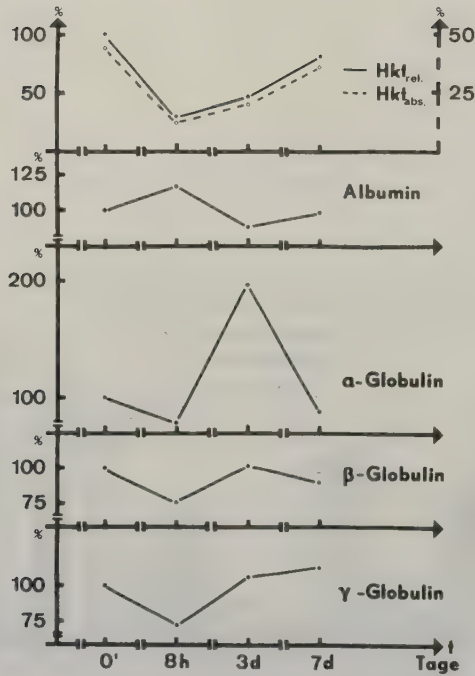


Abb. 4 Relative Verteilung der Plasmaproteinfraktionen bei schrittweiser Hämodilution im Vergleich zum Hämatokritverlauf.
(100 % entsprechen den Ausgangswerten; die absoluten Hkt-Werte sind wie in Abb. 2 dargestellt.)

3.5. Überlebenszeit von allogenen Hauttransplantaten

3.5.1. nach alleiniger, einmaliger ALG-Applikation

Unbehandelte Kontrolltiere (Gruppe A) zeigten eine mittlere Überlebenszeit der Hauttransplantate von 13,1 Tagen (= 0 % Verlängerung). Im Vergleich dazu bewirkte die einmalige Gabe von 400 mg KNG pro kg KG eine zusätzliche Verlängerung von 1,3 Tagen oder 9,9 % (nicht signifikant s. Tab. 9). ALG in gleicher Dosierung führte hingegen zu einer Verlängerung von 6,1 Tagen oder 46,6 % (hochsignifikant s. Tab. 9 und Abb. 5).

Die ersten Anzeichen einer Abstoßungsreaktion konnten bei den Transplantaten der Gruppen A, B und C zwischen 2 und 3 Tagen vor den definierten Abstoßungskriterien (s. S. 8) beobachtet werden (s. Tab. 9).

In der Abbildung 6 ist der relativ steile Abfall der Überlebensraten der Gruppen A und B zu erkennen, d. h. es besteht eine geringe Streuung, während er bei C wesentlich flacher verläuft, der mittlere Fehler des Mittelwertes beträgt hier 2,8 Tage.

Nach der t-Test-Verteilung verhielt sich die mittlere Transplantatüberlebenszeit aus der Gruppe C gegenüber A + B hochsignifikant, während sich B gegen A als nicht signifikant erwies (s. Tab. 8 und 9, Abb. 5).

Tab. 8 Einzelwerte der Überlebenstage von Hauttransplantaten

Nr.	Gruppe								
	A	B	C	D	E	F	G	H	I
1	11	13	16	12	18	19	24	14	26
2	11	13	16	13	19	20	26	15	28
3	11	14	16	14	19	20	27	15	31
4	13	14	18	14	19	20	28	15	
5	13	14	18	14	20	21	28	16	
6	14	14	20	14	21	21	29	16	
7	14	15	21	15	21	21	29	16	
8	14	15	21	15	21	21	29	16	
9	14	16	22		22	22	30	17	
10	16	16	24		23	24	31	17	

Tab. 9

Mittelwerte des Körpergewichtes, des Abstoßungsbeginnes, der Transplantatüberlebenszeit, der prozentualen Verlängerung zu den Kontrolltieren als Vergleich zwischen den einzelnen Gruppen und Angabe der Signifikanz zwischen den Mittelwerten der Transplantatüberlebenszeiten.

Therapie	Gruppe	n	Körpergewicht (g)	Beginn der Abstoßung (d)	MTZ (d)	Verlängerung zur Kontrolle (%)	Signifikanz	Vergleichs- gruppe
unbehandelt.	A	10	$267,0 \pm 5,0$	$10,1 \pm 0,5$	$13,1 \pm 1,6$	0,0		
KNG	B	10	$265,0 \pm 4,7$	$11,3 \pm 0,3$	$14,4 \pm 1,0$	9,9	$0,05 < 2p < 0,10$	zu Gr. A
ALG	C	13	$255,0 \pm 3,4$	$16,1 \pm 0,8$	$19,2 \pm 2,8$	46,6	$2p < 0,001$	zu Gr. B
HD _P	D	11	$231,0 \pm 4,9$	$12,1 \pm 0,4$	$13,9 \pm 0,4$	6,1	$0,05 < 2p < 0,10$	zu Gr. A
HD _M	E	28	$245,8 \pm 2,8$	$17,1 \pm 0,6$	$20,3 \pm 1,6$	55,0	$2p < 0,001$	zu Gr. D
HD _M + KNG	F	13	$251,8 \pm 2,0$	$18,2 \pm 0,4$	$20,9 \pm 1,4$	59,5	$0,3 < 2p < 0,4$	zu Gr. E
HD _M + ALG	G	29	$257,5 \pm 3,2$	$25,2 \pm 0,6$	$28,1 \pm 2,0$	114,5	$2p < 0,001$	zu Gr. E
Decortin	H	10	$255,9 \pm 4,7$	$13,3 \pm 0,3$	$15,7 \pm 0,9$	19,9	$2p < 0,001$	zu Gr. A
Decortin + ALG	I	10	$250,7 \pm 7,3$	$25,6 \pm 1,2$	$28,3 \pm 2,5$	116,0	$2p < 0,001$	zu Gr. H

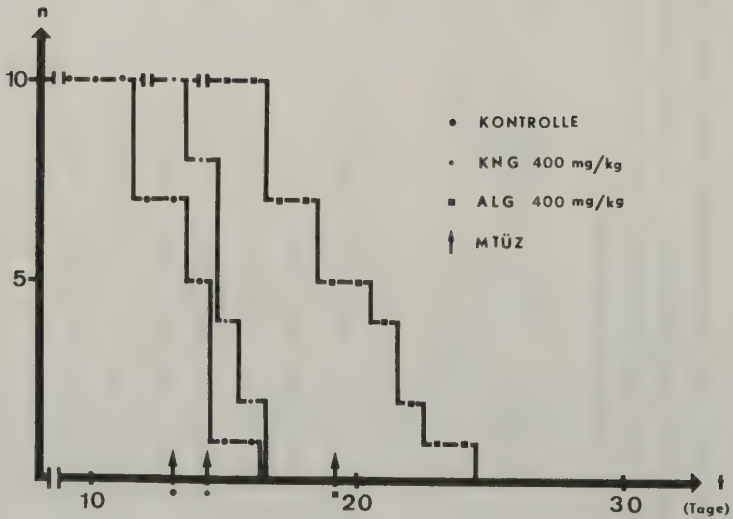


Abb. 5 Transplantatüberlebenszeiten der einzelnen Versuchstiere in den Gruppen KNG (B) und ALG (C) im Vergleich zu denjenigen der Kontrolltiere.

(Die Pfeile auf der Abszisse geben die mittlere Transplantatüberlebenszeit in der jeweiligen Gruppe an.)

3.5.2. Hauttransplantatüberlebenszeit nach Hämodilution mit oder ohne ALG-Zufuhr

Unter den Hämodilutionsversuchen brachte die Dilution mit Dextran 60 (Gruppe E) eine deutliche Transplantatverlängerung sowohl gegenüber den unbehandelten Kontrollen, als auch im Vergleich zu den mit Rattenplasma (Gruppe D) diluierten Tieren. Hier betrug die relative Verlängerung zur Kontrolle 55,0 %. Die MTÜZ von Gruppe F (Dextran 60 + 400 mg KNG pro kg KG) verhielt sich ähnlich.

Hingegen überlebten die Hauttransplantate der Versuchstiere, die nach der Hämodilution mit Dextran 60 noch 400 mg ALG pro kg KG erhielten, wesentlich länger. Sie erreichten eine relative Verlängerung von 114,5 % (s. Tabelle 9 und Abb. 6).

Ähnlich wie Gruppe A, B und C begann die Schwarzverfärbung der allogenen Haut bei den Tieren aus den Gruppen D, E, F und G zwischen 1,8 und 3,2 Tagen früher als die langsame Randablösung der Transplantate, die den endgültigen Abstoßungstag definierte.

Der mittlere Fehler der MTÜZ innerhalb der oben genannten Gruppen lag zwischen 0,4 als Minimum und 2,0 als Maximum, d. h., der Zeitraum, zwischen dem das erste und letzte Transplantat der Gruppe HD_P (D) abgestoßen wurde, umfaßte 3 Tage, während zwischen dem am kürzesten und dem am längsten überlebenden Transplantat der Gruppe HD_M + ALG (G) 7 Tage lagen (s. Tab. 8).

Die Hauttransplantate der mit Dextran 60 diluierten Tiere überlebten hochsignifikant länger als die der Kontrollgruppe, wohingegen die mit Plasma diluierten Tiere keine signifikante Verlängerung zeigten.

Hämodilution mit Dextran 60, in Kombination mit ALG-Therapie brachte eine hochsignifikant längere Transplantatüberlebenszeit sowohl gegenüber Gruppe A (unbehandelt) als auch gegenüber Gruppe D (HD_P) (s. Tab. 8 und 9, Abb. 6).

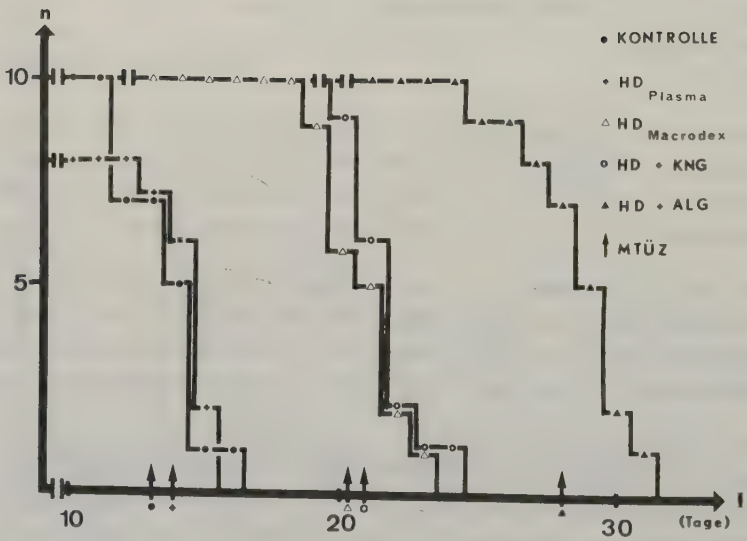


Abb. 6 Transplantatüberlebenszeiten der einzelnen Versuchstiere in den Gruppen D, E, F, G im Vergleich zu denjenigen der Kontrolltiere (s. Abb. 5).

3.5.3. Kortikoid- und ALG-Therapie

Die Decortin-Therapie brachte im Vergleich zu den Kontrollen eine Transplantatverlängerung von 2,6 Tagen (= 19,9 %). Durch gleichzeitige Anwendung von Decortin ließ sich die gefundene tolerierbare Dosis für ALG von 400 mg pro kg KG noch auf 1200 mg ALG pro kg KG steigern. Die MTÜZ lag bei den Tieren dieser Gruppe (I) um 15,2 Tage oder 116,0 % höher im Vergleich zu den Kontrollen und um 12,6 Tage über den mit Decortin behandelten Tieren.

Der Abstoßungsbeginn der Transplantate innerhalb dieser Gruppen verhielt sich ähnlich wie unter den unter Punkt 3.5.1. und 3.5.2. abgehandelten Gruppen.

Auf Grund der hohen Letalitätsrate in Gruppe I erlebten von 10 Tieren nur drei die Transplantatabstoßung, während in Gruppe H alle zehn Tiere überlebten; damit betrug bei Gruppe H der mittlere Fehler der MTÜZ 0,9.

Die Transplantatüberlebenszeit beider Gruppen (H, I) erwies sich als hochsignifikant gegenüber der von A (unbehandelt). Das gleiche gilt für die MTÜZ von I gegenüber der von Gruppe H (s. Tab. 8, 9 und Abb. 7).

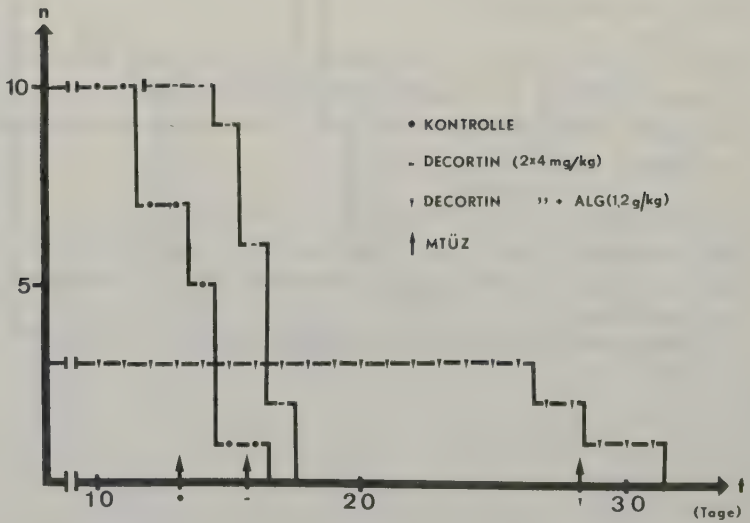


Abb. 7 Transplantatüberlebenszeiten der einzelnen Versuchstiere in den Gruppen Decortin (H) und Decortin + ALG (I) im Vergleich zu denjenigen der Kontrollgruppe (s. Abb. 5).

3.5.4. Zusammenfassende Darstellung der Versuchsgruppen

Abb. 8 veranschaulicht nochmals die Wirksamkeit der verschiedenen Therapieversuche auf die Hauttransplantatabstoßung. 100 % relative Transplantatverlängerung (s. Abb. 8) werden nur in den Gruppen G ($HD_M + 400 \text{ mg ALG/kg KG}$) und I (Decortin + $1200 \text{ mg ALG/kg KG}$) erreicht. Die Gesamtheit der Transplantate aus diesen Gruppen leben also länger als die der Kontrollgruppe. Die Ergebnisse aus den Kollektiven B (400 mg KNG/kg KG) und F (HD und 400 mg KNG/kg KG) wurden in diese Abbildung nicht eingetragen, da sie keine signifikante Verlängerung gegenüber Gruppe A bzw. E zeigten.

Aus der Abb. 9 lassen sich die MTÜZ in den verschiedenen Kollektiven zusammenfassend vergleichen.

1. HD mit Dextran 60 und 400 mg ALG/kg KG i. v. (G) oder $1200 \text{ mg ALG/kg KG}$ i. v. unter Kortikoidvorbehandlung (I) zeigen die besten Therapieerfolge, wenn die hohe Letalitätsrate von Gruppe I unberücksichtigt bleibt.
2. HD mit Dextran 60 (E) bringt eine signifikant längere MTÜZ als HD mit Rattenplasma (D).
3. Die MTÜZ der einmal mit 400 mg ALG/kg KG (C) therapierten Tiere ist nicht signifikant länger als die MTÜZ derer, die mit Dextran (E) hämodiluiert wurden.
4. KNG (B bzw. F) wirkt nicht signifikant verlängernd auf die MTÜZ.
5. Kortikoidtherapie bei zweimaliger Behandlung (H) ohne ALG-Zufuhr verlängert die MTÜZ geringgradig jedoch signifikant.

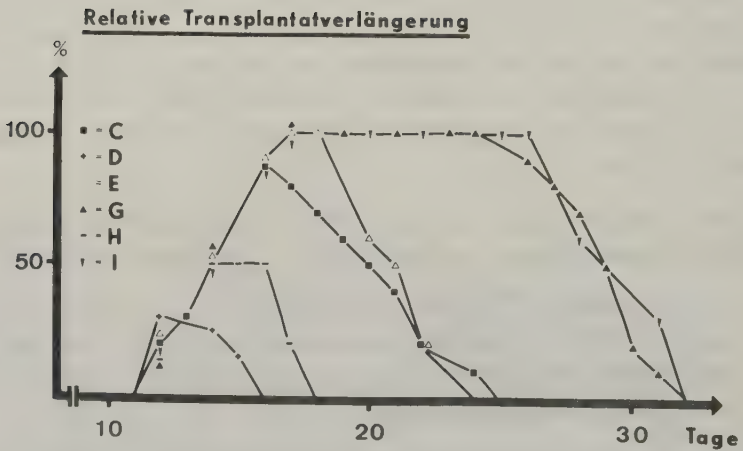


Abb. 8 Verhalten der relativen Transplantatverlängerung dargestellt als Differenz zwischen den prozentual überlebenden Transplantaten in den Gruppen C, D, E, G, H, I und denen der Kontrollgruppe. (100 % rel. Transplantatverlängerung entsprechen 100 % überlebende Transplantate in Gruppe C, D, E, G, H oder I minus 0 % in der Kontrollgruppe.)

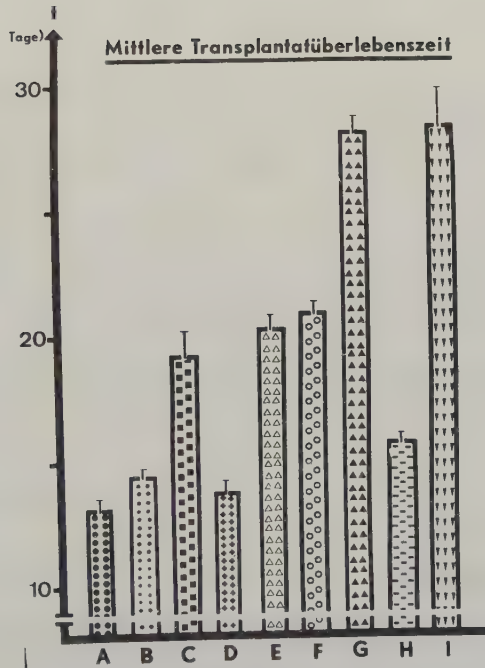


Abb. 9 Gegenüberstellung der mittleren Transplantatüberlebenszeiten in den Gruppen A - I.

4. DISKUSSION

4.1. Methodik

Die Hämodilutionsversuche mit Dextran konnten nur an Wistarratten durchgeführt werden, da dieser koloniegezüchtete Auszuchtstamm nicht die bekannte Dextranempfindlichkeit anderer Rattenstämme zeigt.

Die Ratten (ca. 270 g) waren im Mittel drei Wochen alt; es handelte sich also um jugendliche Tiere. Dies mag insbesondere für thymusabhängige Immunreaktionen von Wichtigkeit sein.

In den Arbeiten von Pichlmayr (119), James (71) und Zink (157) wurden die Gewinnung und Aufbereitung von ALG bzw. ALS, die in gleicher Weise hergestellt wurden, eingehend beschrieben, so daß auf die Diskussion dieses Punktes hier verzichtet werden soll.

Das gleiche gilt für die immunologischen Testverfahren und die Kriterien der Abstoßung für Hauttransplantate (157, 49).

4.2. Ergebnisse

4.2.1. Dosisversuche

In den Vorversuchen sollte das größtmögliche Blutvolumen gefunden werden, das bei den Versuchstieren durch ALG ersetzt werden kann.

Eine schrittweise Dilution mit ALG erschien nicht sinnvoll, da auf diese Weise jeweils mit dem entnommenen Blut wieder bereits in einem vorhergehenden Schritt infundiertes ALG mit entzogen worden wäre. Eine genaue Dosierung des ALGs wäre in diesem Verfahren schwieriger, der Verlust an ALG erheblich, so daß dieses Vorgehen viel zu unwirtschaftlich gewesen wäre. Allerdings ist die "single step" Dilution, wie sie in diesen Versuchen zur Anwendung kam, weniger physiologisch, da sie kurzfristige Schwan-

kungen des Blutvolumens hervorruft.

Maximal konnten ca. 30 % des gesamten Blutvolumens der Ratte mit KNG (entsprach der Dosierung von 1400 mg KNG/kg KG) ausgetauscht werden. Bei der Verwendung von ALG in derselben Dosierung starben 100 % der Tiere.

Es konnte deshalb in den Transplantationsversuchen nur 8,6 % des Blutvolumens (400 mg/kg KG) durch ALG ersetzt werden. Dies stellte die von Ratten maximal tolerierte ALG-Dosis dar, in der ALG ohne Zusatztherapie (Prednisolon) keine Letalität bewirkte. Durch die zusätzliche Gabe von Prednisolon konnte allerdings die ALG-Dosis von 400 mg/kg KG noch auf 1200 mg/kg KG gesteigert werden, was einem ausgetauschten Blutvolumen von ca. 25,7 % entspricht. Vergleichsweise bewegt sich die ALG-Dosierung beim Patienten in der klinischen Anwendung zwischen 10 und 50 mg/kg KG (146, 25). Das entspricht etwa einem Fünfundzwanzigstel der von uns ohne Zusatztherapie verwendeten ALG-Dosis (4 %) und einem Fünfundsiebzigstel (1,3 %) bei zusätzlicher Prednisolon-Applikation.

4.2.2. Hämodilution

4.2.2.1. allgemeine Wirkungen

Die isovolämischen HD-Versuche wurden unternommen, um die erreichte maximale ALG-Dosierung möglicherweise noch steigern zu können, bzw. die ALG-Toxizität dadurch zu verringern, daß nur noch ein Teil der zirkulierenden Lymphozyten durch ALG zerstört werden kann, und somit die Menge der freiwerdenden Toxine reduziert wird.

Aus der Literatur (57, 58) ist bekannt, daß Ratten extreme Hämodilution sogar bis zu einem Hkt von 0 % (allerdings mit Fluorocarbon) überleben. Unsere Versuche haben gezeigt, daß die prozentuale Überlebensrate der Ratten nach isovolämischer HD zwischen 73 % (mit Rattenplasma diluiert) und 52 % (mit Dextran 60 und 400 mg ALG/kg KG diluiert) lag. Die Mortalität der mit Dextran 60

diluierten Tiere war durchschnittlich höher als die der mit Plasma diluierten, was wahrscheinlich auf die anaphylaktoiden Reaktionen und auf die Veränderungen der Blutgerinnung nach Dextran 60-Behandlung zurückzuführen ist (s. S. 39).

Diese Ergebnisse stimmen weitgehend mit den Resultaten von Elb, Arturson (51) überein (s. Tab. 10, S. 35).

Die geringfügige Erhöhung der Überlebensrate der Tiere von 73 % in der Gruppe HD_M (D) auf 77 % in der Gruppe HD_{M+KNG} (F) läßt sich durch die zusätzlich reinfundierten Erythrozyten (s. S. 7) erklären. In Gruppe HD_{M+ALG} (G) allerdings trat wegen der hohen ALG-Dosis trotz reinfundierter Erythrozyten eine Verschlechterung der Überlebensrate auf 53 % ein. Allgemein gilt, daß die Hämodilution eine kompensatorische Steigerung des Herzzeitvolumens zur Folge hat, dadurch kann der verminderte Sauerstoffgehalt im Blut kompensiert werden, und sowohl die Sauerstoff-Transportkapazität als auch die Sauerstoff-Aufnahme des Gewebes bleiben im Normbereich (112, 139). Dies ist der wesentliche Mechanismus, der eine extreme Hämodilution z. B. auch an der Ratte überhaupt ermöglicht.

Um die geringfügige MTÜZ bei der Ratte nach HD deuten zu können, soll kurz auf die allgemeinen Veränderungen des Blutes nach HD eingegangen werden.

Der Abfall bzw. Anstieg des Hkts 13 Tage nach HD bei der Ratte ist vergleichbar mit Hkt-Verläufen bei HD-Versuchen am Hund (69). Nach 14 Tagen ist der Ausgangshämatokrit wieder erreicht.

Ebenso ist jede HD mit einem Verlust von Plasmaproteinen verbunden, deren Restitution ausführlich in den Versuchen von Meßmer et al. und Klövekorn (79, 109) diskutiert wurden.

Bei unseren Ergebnissen der relativen Verteilung von Plasmaproteinen fällt auf, daß die Globulinfractionen 8 Stunden nach Dilution deutlich absanken, die Albuminfraction anfangs noch anstieg, um in der ansteigenden Phase der Globuline wieder abzufallen. Die α -Globuline sanken nach 7 Tagen erneut ab, wohingegen das γ -Globulin vom 8 Stunden-Wert bis nach 7 Tagen an-

Tab. 10

(aus Elb, S., Arturson, G.)

Number of surviving rats and rats with oedema after haemodilution to haematocrit 10 % obtained by bleeding and immediate replacement with different solutions.

Sub-grs.	Haemodilution solutions	Rat strains	No. of rats	No. of surviving rats after			No. of rats with oedema
				24 hrs.	48 hrs.	14 days	
1	Ringer-bicarbonate		10	2	2	2	0
2	Dextran 70,6 % in 0,9 % NaCl		10	6	6	3	10
3	Dextran 70,6 % in 0,9 % + Ringer-bicarbonate (1 : 1,5)						
		Sprague-Dawley	10	9	8	6	10
4	Pooled rat plasma		10	10	9	8	0
5	Dextran 70,6 % in 0,9 % NaCl						
		Dextran-tolerant strain	10	9	9	9	0

1
3
5
1

stieg und den relativen Ausgangswert sogar überschritt. Klövekorn beschreibt ebenfalls in seinen Dilutionsversuchen an Hunden (79), daß die Restitutionsrate der verschiedenen Plasmaproteinfraktionen uneinheitlich ist. Nach seinen Ergebnissen (absolute Proteinwerte) haben die α - und β -Proteine ihre Ausgangskonzentration bereits 3 Tage nach der HD erreicht, während die Restitution der γ -Globuline nach 9 Tagen abgeschlossen war. Die Albuminkonzentration erlangte erst nach 21 Tagen ihren Ausgangswert. Das Überschreiten des Ausgangsabsolutwertes in der γ -Globulinfraktion wird von Klövekorn nach einigen Wochen beobachtet. Da die Gesamteiweißbestimmung bei dextranhaltigem Plasma mit den üblichen Bestimmungsmethoden keine verwertbaren Ergebnisse ergibt und für die Spezialverfahren größere Plasmamengen benötigt werden, haben wir uns darauf beschränkt, das relative Verhalten der Eiweißfraktionen untereinander zu vergleichen.

Bei der Ratte traten die relativ höheren Prozentwerte in der γ -Globulinfraktion nach einer Woche auf.

Verbesserung der Mikrozirkulation nach Hämodilution

Um die verzögerte Abstoßungsreaktion der Hauttransplantate nach HD zu erklären, sollen auch die rheologischen Veränderungen bei der HD berücksichtigt werden; d. h. ein schnelleres Anwachsen und damit längeres Überleben der Hauttransplantate wäre durch die verbesserte Mikrozirkulation nach HD denkbar.

Diese rheologischen Veränderungen bei isovolämischer HD wurden an Hand von Hundeexperimenten ausführlich untersucht (109, 110, 111, 112). Mit dem Absinken des Hkt ist eine erhebliche Viskositätserniedrigung, vor allem in den postkapillären Venolen nachgewiesen worden, die zu einer wesentlichen Verbesserung der Mikrozirkulation führt. Nach Meßmer (112) kann der erniedrigte Sauerstoffgehalt im Blut nach HD kompensiert werden:

- a) durch den Anstieg der nutritiven Durchblutung,
- b) durch die leichtere Sauerstoffabgabe ans Gewebe infolge einer Erniedrigung des venösen Sauerstoffpartialdruckes,

c) durch die Rechtsverschiebung der Sauerstoffbindungskurve.

Zusätzlich soll die Sauerstoffabgabe ans Gewebe durch den Abfall der Sauerstoff-Hämoglobinaffinität bei niedrigen Hkt-Werten erleichtert sein.

Infolge dieser verbesserten Bedingungen für die Mikrozirkulation nach HD können in Zusammenhang mit unseren Versuchen ebenfalls verbesserte Strömungsbedingungen und daraus resultierende, verlängerte MTÜzen angenommen werden.

HD und ihr Einfluß auf immunkompetente Strukturen

Die präformierten, humoralen AK haben vor allem bei xenogenen, hyperakut verlaufenden Abstoßungsreaktionen eine große Bedeutung. In den von Fiedler (54) beschriebenen Versuchen konnten durch HD präformierte AK gegen Schweineerythrozyten und Schweinenierengewebe im Hundeserum deutlich reduziert werden. Bei unseren allogenen Hauttransplantationsversuchen dürfte der Entzug präformierter AK keine entscheidende Rolle spielen, da in den Kontrollgruppen keine hyperakuten Abstoßungsreaktionen beobachtet werden konnten.

Eine wahrscheinlich größere Bedeutung kommt der Elimination von Komplement zu, das für die volle Wirksamkeit von AK gegen Zellen notwendig und dessen Mitwirkung bei allogenen und xenogenen Abstoßungsreaktionen schon lange bekannt ist. Sowohl am Menschen (62) nach allogenen Nierentransplantationen als auch an Mäusen nach allogenen Hauttransplantaten (152) wurden durch Komplemententzug im Empfängersystem verlängerte Transplantatüberlebenszeiten beobachtet.

Ebenso spielt die Elimination der zellulären Bestandteile, wie Thrombozyten und Leukozyten eine wichtige Rolle.

Wie Ljungquist (104)⁹ zeigte, scheinen Thrombozyten die allogene Transplantatabstoßung zu beeinflussen. Im Rahmen der Leukozytenverminderung werden natürlich auch die peripheren Lymphozyten

vermindert. Eine verringerte Antigenerkennung könnte die Folge sein. Obwohl bei der Ratte die Lymphozyten schnell regeneriert werden (140), ist doch anzunehmen, daß es möglicherweise zu einer qualitativen Verschiebung zwischen T- und B-Zellen kommt, oder weniger ausgereifte, in ihrer Immunkompetenz schwächere Lymphozyten ausgeschwemmt werden.

Im Gegensatz dazu steht der Stimulationseffekt der HD auf das RHS. Nach Sturgill (138) verursacht die Elimination von Serumantikörpern durch Austauschtransfusion einen Anstieg über den erwarteten Wert der direkt "plaques-bildenden" Zellen in der Milz (19 S-AK-bildend) und bestätigt die Annahme, daß eine feedback-Kontrolle für die Proliferation der 19 S-AK-produzierenden Zellen besteht.

4.2.2.2. Dextranwirkung

4.2.2.2.1. Verbesserte Mikrozirkulation

Die verbesserte Mikrozirkulation nach Dextrangabe infolge erniedrigter Blutviskosität, günstigerer Sauerstoff-Hämoglobin-Affinität, erniedrigten Fibrinogenspiegels usw. ist als spezifischer Dextraneffekt in der Literatur mehrfach beschrieben (3, 84, 139). Ähnliches gilt für die antithrombotischen Eigenschaften von Dextran, das sowohl durch den sog. "coating-effect", die Oberflächenbeschaffenheit der Blutbestandteile und der Gefäßendothelien verändert, ferner partiell die Freisetzung von Thrombozytenfaktor 3 durch Interaktion mit dem ADP-Stoffwechsel hemmt, als auch mehrere Faktoren der Blutgerinnung beeinflußt (52, 53, 154).

Diese positive Beeinflussung der Mikrozirkulation und die Antithrombosewirkung zeigte sich in der Therapie mit niedermolekularem Dextran nach Hautlappentransplantationen (26, 28, 64, 85, 143). Hierbei konnte ein schnelleres Anwachsen der Transplantate beobachtet werden. Myers und Cherry, sowie Oneal et al. (115, 117) konnten allerdings keine signifikante Verbesserung im Überleben von Hautlappentransplantaten feststellen.

4.2.2.2.2. Wirkungen auf das Immunsystem

Anaphylaktoide Reaktionen bei der Ratte

Wie oben erwähnt, lag die Überlebensrate der mit Dextran 60 diluierten Tiere unter derjenigen mit Rattenplasma diluierten. Dieser Befund ist mit großer Wahrscheinlichkeit auf unerwünschte Nebenwirkungen des Plasmaexpanders, wie akute Schockreaktionen, Veränderungen der Blutgerinnung, Nierenschäden, Herz-Kreislaufschäden sowie Hemmungen der Eiweißsynthese (123) zurückzuführen. Wie Geyer (58) und Elb et al. (51) beschrieben, zeigten auch unsere Wistarratten teilweise Ödeme, vor allem an den Konjunktiven, Nasenschleimhäuten, an der Zunge, den Extremitäten und dem proximalen Schwanzdrittel. Nach Baxter und Chakravarty et al. (11, 31) sind diese Symptome durch die Freisetzung von Histamin aus den Mastzellen bedingt.

Da bisher in der Literatur nur Antikörper gegen Dextran-Protein-Konjugate (125) jedoch selten gegen Dextran 60 nachgewiesen werden konnten (126), wurde für solche anaphylaxieähnlichen Reaktionen der Begriff der Anaphylaktoidie geprägt. Raab (123) versteht unter diesem Begriff Reaktionen, die im klinischen und feingeweblichen Bild von anaphylaktischen Phänomenen nicht zu unterscheiden sind, die jedoch ohne Vorhandensein von Antikörpern auftreten. Die Auslösung einer Anaphylaktoidie gehört zu den pharmakologischen Eigenschaften einer Substanz und ist dementsprechend dosisabhängig. Es werden zwei Formen unterschieden: die zelluläre und humorale Anaphylaktoidie. Im ersteren Fall handelt es sich um die Freisetzung zellulärer Mediatorsubstanzen (z. B. Histamin aus Mastzellen) im zweiten um die Aktivierung humoraler Mediatorsubstanzen (z. B. Kinine aus Plasminogen).

Andere Autoren (126, 30, 50) sprechen von dextranreaktiven Antikörpern bzw. von mit Dextran kreuzreagierenden Antikörpern. Diese Eigenschaften des Dextran 60, möglicherweise als Aktivator für dextranreaktive Antikörper zu fungieren, könnten nach dem Prinzip des antigenen Wettbewerbes (s. S. 42) die verlängerten MTÜZ der mit Dextran diluierten Ratten (Gruppe E, F, G) erklären. In

unserem speziellen Falle könnten Dextran und allogenenes Hauttransplantat bzw. Dextran, xenogenes, immunspezifisches Globulin und allogenenes Hauttransplantat zueinander in Konkurrenz treten.

Wirkung von Dextran auf das RHS

Die Wirkung von Kolloiden auf das phagozytäre und immunologische System wird von verschiedenen Autoren sehr unterschiedlich gesehen. Es gilt als gesichert, daß Dextran - ähnlich wie andere Kolloide (107, 153) - bereits kurz nach i. v.-Applikation in den unterschiedlich lokalisierten Zellen des RHS nachweisbar ist und darin gespeichert wird (15). Über eine Blockade des RHS durch Dextran oder Gelatine werden ebenfalls uneinheitliche Angaben gemacht. Lemperle und Nicola (101, 116) fanden bei Mäusen nach der einmaligen Anwendung von Dextran 60 bzw. Gelatine eine kurzzeitige Phagozytosehemmung, d. h. eine rasch reversible, funktionelle Beeinträchtigung des RHS. Dies führte allerdings nach mehrmaliger Applikation zu einer Steigerung der Phagozytoserate. Schmid und Burri (142, 27) konnten hingegen bei der Maus keine RHS-Blockade durch Dextran feststellen. Andere Autoren fanden wiederum in Untersuchungen am Menschen (68) und Ratten (114) eine Beeinträchtigung des RHS nach Gelatine-Infusion nicht jedoch nach Dextrangabe.

Im Zusammenhang mit der möglichen RHS-Hemmung durch Kolloide, sollen die Opsonine erwähnt werden. Hierbei handelt es sich um Stoffe im Blutserum (gewöhnlich Antikörper), die sich an Bakterien und andere Partikel heften und so deren Phagozytose ermöglichen (88). Sie dienen als sog. "recognition factors" nicht nur der Erkennung antigener Oberflächen, sondern sind auch in der Lage, die Phagozytoseaktivität des RHS zu stimulieren (131). Mehrere in vitro und in vivo-Untersuchungen der RHS-Aktivität mit Fettemulsionen (36, 37, 76, 122, 132) zeigten eine deutliche Abhängigkeit zwischen der Kolloidgabe und dem Abfall des Opsoninspiegels. Auf Grund dieser Reaktion des Opsoninsystems wird ein noch ungeklärter Kontrollmechanismus für den Op-

soninblutspiegel angenommen, der direkt die Aktivität des RHS steuert. In unserem Versuchsmodell würde ein derartiger Abfall des Opsoninspiegels, sei es durch die reine HD oder durch Dextran 60 bedingt, den durch die HD_M erreichten Effekt, nämlich die Transplantatverlängerung erklären.

Über die Wirkungen verschiedener Dextrane auf das Immunsystem wurden zahlreiche Arbeiten veröffentlicht. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen sind abhängig von den einzelnen verwendeten Dextranpräparaten, die sich in ihrer Struktur, ihrem Molekulargewicht, ihrem physikalisch-chemischen Zustand und infolgedessen auch in ihren Wirkungen deutlich unterscheiden. Einige dieser Versuchsergebnisse seien noch kurz erwähnt. Zum Beispiel scheint hochmolekulares Dextran (Molekulargewicht = 186 000) die IgM- bzw. IgG-Konzentration zu beeinflussen. Für das Ansteigen bzw. Abfallen der Konzentration soll die zeitliche Aufeinanderfolge zwischen der Dextran- und Antigenapplikation entscheidend sein (10). Es wurde dabei sowohl eine Beeinflussung der T- bzw. B-Zellen beobachtet (9, 38). T-Zellen sollen nach ihrem Kontakt mit Dextran B-Zellen stimulierende Faktoren freisetzen, die für eine numerische Zunahme IgG- bzw. IgM-bildender Zellen verantwortlich sind.

Mehrere Autoren wiesen Dextransulfat als B-Zell Mitogen (17, 47) und damit als Stimulans für die AK-Produktion aus. Nach Vachek (149) soll unter Einfluß von Dextransulfat auch die zelluläre Immunantwort verzögert erfolgen. Stimulierende Wirkung scheint allerdings nur während der sog. Induktionsphase aufzutreten, während der Effektorphase hingegen scheinen die hemmenden Komponenten zu überwiegen. Die Stimulation der humoralen AK-Produktion wird hauptsächlich der Polyionenstruktur des Dextransulfats zugeschrieben (43, 44, 45). Ferner konnte ein gewisser Adjuvans-effekt für Dextransulfat (17) bzw. für Diethylaminoethyl-Dextran (155) nach der Gabe von Schaferthyrozyten bzw. inaktivierten Maul- und Klauenseuchenviren nachgewiesen werden.

Da jedoch in den vorliegenden Versuchen kein Dextransulfat verwendet wurde, können diese Effekte zur Erklärung der eigenen Ergebnisse nicht herangezogen werden.

4.2.3. Antilymphozytenglobulin

4.2.3.1. Allgemeine Wirkung

Trotz zahlreicher klinischer und experimenteller Untersuchungen konnte der Wirkungsmechanismus von ALG bis jetzt noch nicht vollständig aufgeklärt werden. Doch wurden verschiedene Theorien (8, 25, 43, 61, 63, 70, 71, 72, 75, 92, 93, 99, 102, 120, 121, 136, 147) über mögliche Angriffspunkte von ALG aufgestellt, die an anderer Stelle (157) folgendermaßen skizziert sind:

"a. Lymphozytenverarmung

Hierbei handelt es sich um eine selektive Verminderung peripherer Lymphozyten. Als wirksame Mechanismen gelten, z. B. die direkte Zytotoxizität durch Komplement, bei der Toxine eingreifen. Weiterhin die Opsonisation, bei der unter Beteiligung von Komplement die Lymphozytenoberflächen derart verändert werden, daß sie der Phagozytose, z. B. durch Makrophagen, anheimfallen.

b. "blindfolding"

ALG-Partikel sind, wie man in Immunfluoreszenzbildern sieht, an den Lymphozytenmembranen fixiert. Dadurch ist ihnen die Möglichkeit der Antigenerkennung genommen. Sie sind "erblindet".

c. Sterilaktivierung

Lymphozyten sollen durch Blastentransformation ihre antigenbezogene Reaktionsfähigkeit verlieren.

d. Antigen-Wettbewerb

ALG als starkes Antigen induziert AK-Produktion gegen sich selbst. Die Immunantwort gegen ein weiteres Antigen soll deshalb schwächer ausfallen.

e. Enhancement, Stimulation der Nebennierenrinde, Induktion eines Thymusfaktors, RHS-Depression und antikomplementäre Wirkung seien nur erwähnt."

Mit der Zytotoxizitätstheorie a. lassen sich derzeit die meisten Phänomene erklären. Sie wird z. B. von Bach (14), Brendel (25) und Reis (124) für die Wahrscheinlichste gehalten.

Elektronenmikroskopische Studien (34, 94, 97, 130, 143) an ALS inkubierten Lymphozyten bestätigten vor allem die Zytotoxizitätstheorie. Bereits 6 Stunden nach Inkubationsbeginn sind die Lymphzellen bei der Ratte weitgehend zerstört, die Zellstrukturen der noch vorhandenen grob verändert. Obwohl nach ALG-Applikation eine Stimulation der lymphatischen Gewebe beobachtet werden kann (40, 41, 74, 95), besteht weitgehend Einigkeit darüber, daß weniger die sessilen, als die zirkulierenden Lymphozyten der ALG-Wirkung ausgesetzt sind (19, 41, 92). Von großer Wichtigkeit scheint jedoch hierbei der Befund, daß die durch ALG geschädigten Lymphozyten sich in die Lymphknoten zurückziehen (91), wo sie sich wahrscheinlich in Plasmazellen und Immunozyten verwandeln (7).

Der Verlauf der Blutlymphozyten nach ALG-Therapie wurde so häufig beschrieben (45, 118), so daß er in dieser Arbeit nicht mehr verfolgt wurde.

Bei der Beurteilung der immunsuppressiven Potenz von ALG scheint den Titern hämagglutinierender und lymphozytotoxischer Antikörper in Versuchen an Nagetieren mit relativ hohen Dosen keine so bedeutende Rolle zuzukommen wie am Menschen (4, 67, 73, 98). Auch die in diesen Versuchen verwendete ALG-Charge zeigte mit 1 : 64 einen niederen lymphozytotoxischen Titer, bewirkte aber in der Therapie von allogenen Hauttransplantaten bei gleicher ALG-Gesamtdosis (400 mg/kg KG), jedoch verteilt auf 80 mg/kg KG an jedem 2. Tag bei i. p. Gabe, eine Verzögerung des Abstoßungszeitpunktes um 12,2 Tage (2). Damit erwies sich dieses ALG als hochimmunsuppressives Globulin.

4.2.3.2. Applikationsmodus

Bei Gabe gleicher Dosen von ALS bzw. ALG finden sich entscheidende Unterschiede in der immunsuppressiven Wirksamkeit nach in-

tramuskulärer (i. m.), intraperitonealer (i. p.) und intravenöser (i. v.) Injektion. Gegenüber der i. m. und i. p.-Gabe zeigt die i. v.-Applikation deutliche Vorteile, die mit dem sofort einsetzenden hohen Wirkspiegel und den damit günstigeren Voraussetzungen für die ALG-Effekte zu sehen sind. Untersuchungen von Reis (124) mit Kaninchen-anti-Rattenglobulin ergaben:

1. Das Maximum an ALG-Konzentration ist nach i. v.-Injektion früher (bereits nach 10 min.) als nach i. p.-Injektion (ca. 8 Stunden) und nach i. m.-Injektion (24 Stunden) erreicht.
2. Das im Blut bestimmbare Aktivitätsmaximum erreicht nach i. p.-Gabe nur 65 % und nach i. m.-Gabe nur etwa 30 % der maximal nach i. v.-Gabe beobachteten Konzentration.

Nach Dalton et al. (39) wird der antikörperaktive Anteil des ALGs nach i. m. und i.p.-Injektion zum Teil an Zellen im Bereich der Injektionsstelle absorbiert, was die maximale Konzentration reduziert. Wichtiger scheint die verzögerte Resorption nach i. p. und i. m.-Injektion und im Zusammenhang damit die Möglichkeit zum rascheren proteolytischen Abbau des heterologen Eiweißes zu sein (124). Außerdem wird dem Zeitpunkt der ALG-Applikation eine gewisse Bedeutung beigemessen. Wie auf Seite 43 beschrieben, wirkt ALG vorwiegend supprimierend auf die zelluläre Immunantwort. Jedoch wurde bei einer der Antigenexposition vorausgehenden oder gleichzeitigen Gabe (wie es in unseren Versuchen durchgeführt wurde) eine Wirkung auf die humorale Immunantwort beobachtet (129).

4.2.3.3. Dosierungsmodus

Zahlreiche Autoren haben gezeigt, daß sich die ALG-Wirkung am besten entfalten kann, wenn kleine bis mittlere Dosen (14) (10 - 50 mg/kg KG am Menschen, 50 - 100 mg/kg KG bei der Ratte (25)), wiederholt gegeben werden. Dabei ist jedoch nach dem 5. - 7. Tag, wegen der Bildung von Antikörpern gegen das Fremdglobulin, mit einer Immunelimination zu rechnen. Diese kann durch hohe ALG-

Dosen noch verstärkt werden (90, 157).

Bei der Überlegung, die ALG-Quantität um das 10- bzw. 30fache der bisher bei Ratten verwendeten Höchstdosen zu steigern, lag die Annahme zu Grunde, möglicherweise Depots zu schaffen, z. B. in den Geweben (Leber, Milz, Niere) (124), in denen sich ALG nach üblicher Dosierung anreichert (33, 134, 157). Ferner erschien es möglich, daß die Dosisvervielfachung eine qualitativ andere, für die ALG-Therapie günstigere Eliminationskinetik zur Folge habe, da durch die einmalig hochdosierte Applikation von ALG keine Sensibilisierung der Tiere, wie bei mehrmaligen, xenogenen Proteingaben, zu erwarten war.

In den Dosierungen, die über 400 mg/kg KG lagen, erwies sich ALG als hoch toxisch. Höhere Dosierungen konnten nur durch eine Zusatztherapie mit Prednisolon erreicht werden (s. S. 47). Die Toxizität des ALGs in diesen hohen Dosierungen mag einmal indirekt durch die zerstörten Lymphozyten bedingt sein, aus denen Toxine freigesetzt werden und deren Trümmer das RHS überladen, zum anderen aber auch in einer erschöpfenden Reaktion im RHS auf das xenogene immunspezifische Serum seine Begründung finden. Diese stark toxische Wirkung wird nicht bei xenogenem, unspezifischem Serum festgestellt.

Nach den bisherigen Befunden müßte man bei stark erhöhten sowie häufigen ALG-Gaben eine Beschleunigung der Immunelimination erwarten (90, 135). Die transplantatprotektive Wirkung könnte deshalb durch eine Vervielfachung der Dosis abgeschwächt werden. In unseren Ergebnissen hingegen zeigt sich bei einmaliger Applikation einer exzessiv hohen Dosis (400 mg/kg KG) ein anderes Verhalten: Die einmalige Gabe von ALG bringt eine Verlängerung der MTÜZ von immerhin 76 % gegenüber der gleichen ALG-Gesamtmenge bei intermittierender Therapie über 10 Tage ((2), MTÜZ = 25,3 Tage = 100 %)). Im Vergleich zu diesem Kollektiv bewirkt die Steigerung der einmaligen Gesamtdosis auf 1200 mg/kg KG sogar eine Verlängerung der MTÜZ von 112 % (I). Eine einmal erfolgte Suppression des lymphatisch-immunologischen Systems der Ratte durch ALG hätte wegen seiner großen Regenerationsfähigkeit (140) sicher nicht diese nachhaltige Wirkung von über 28 Tagen.

DIESER BEFUND LEGT EINE GEWISSE
DEPOTWIRKUNG NACH EINMALIGER SEHR
HOHER ALG-DOSIS NAHE!

Als wirksame Mechanismen ließen sich hierfür z. B. eine verlangsamte Elimination für ALG oder dessen Speicherung im Gewebe denken.

Durch den einmaligen Überschuß an ALG könnten nicht nur die peripheren Lymphozyten des T-Typs vollständig zerstört werden, sondern auch die Antikörper produzierenden Zellen, die als Plasmazellen und lymphoide Zellen im Knochenmark sowie den lymphatischen Organen liegen und sich bei den üblichen ALG-Dosierungen der ALG-Wirkung entziehen, getroffen werden. Diese Suppression der humoralen Immunantwort, die nur durch höhere ALG-Konzentrationen und nur bei Suppression vor oder gleichzeitig zur ALG-Exposition wirksam wird (s. S. 44), ist im wesentlichen durch die Wirkung auf die als sog. "helper-cells" fungierenden T-Zellen zu erklären (96).

Interessanterweise erreichte die HD in Kombination mit einer einmaligen ALG-Dosis von 400 mg/kg KG annähernd dieselbe Wirkung in bezug auf die MTÜZ wie die verdreifachte ALG-Dosis unter Kortikoidgabe. Rein formell entspricht das ungefähr einer Summierung beider Einzeleffekte (alleinige ALG-Therapie 400 mg, alleinige HD^{Macrodex}). Dies legt die Vermutung nahe, daß durch die HD_M und Applikation von ALG sowohl die zelluläre als auch humorale Immunantwort des für die Transplantatabstoßung verantwortlichen Immunsystems beeinflusst werden.

4.2.4. Prednisolon

Durch die Therapie mit Prednisolon konnte die MTÜZ um 20 % verlängert werden, obwohl Kortikoide im allgemeinen die Wundheilungs-

tendenz herabsetzen (158). Es müssen also die Transplantat-protektiven Eigenschaften überwiegen. Es ist zu überlegen, ob ein entzündliches Ödem in der Initialphase nicht verringert wird und so die Diffusionsverhältnisse in den noch nicht mit Kapillaren versehenen Hautlappen verbessert werden.

In zahlreichen Arbeiten (48, 84, 86, 105) ist ein "lymphoklastischer" Effekt von Prednisolon beschrieben. Er zeigt sich in einer Volumenreduktion der Lymphknoten und einer numerischen Reduktion (56) nicht nur der zirkulierenden, sondern auch der sessilen Lymphozyten. Es wäre also vorstellbar, daß so die Lymphozyten, die sich durch das sog. "Homing" dem direkten Einfluß des ALG in der Blutbahn entziehen können, miterfaßt werden (91, 7). Möglicherweise wird auch nur der Stimulstionseffekt unterdrückt, den ALG im lymphatischen Gewebe bewirkt (40, 41, 92).

In den vorliegenden Versuchen wurden noch jugendliche Tiere verwendet. Es ist also vorstellbar, daß bei diesen auch der thymus-involvierende Effekt von Prednisolon wirksam wird (32, 48, 91, 105, 156).

Wie Billingham (16), Morgan (113) und Schapiro (141) zeigen, haben Kortikoide auch einen direkt immunsuppressiven Effekt dadurch, daß sie die Entstehung von Antikörpern auf einen antigenen Reiz hemmen. In unserem Versuchsmodell ist nicht nur das Transplantat als Antigen wirksam, sondern auch das verwendete xenogene ALG. Durch die Gegenüberstellung der Gruppen C, H und I lassen sich die einzelnen Faktoren ALG, Prednisolon, ALG und Prednisolon gegeneinander abwägen. Es ist dabei aber zu berücksichtigen, daß sich die ALG-Dosierung durch die Mitverwendung von Kortison um das Dreifache steigern ließ. Dies bedeutet aber nicht, daß nur die ALG-Effekte vervielfacht werden, da nach Untersuchungen von Lance und Berenbaum (78, 14) die reine Erhöhung der ALG-Dosis eine unverhältnismäßig verstärkte Immunelimination zur Folge hat. Man muß also annehmen, daß die erhöhte ALG-Dosis nur in dem Maße wirksam werden kann, wie die immunsuppressive Wirkung von Prednisolon die Entstehung von Antikörpern gegen ALG zu verhindern vermag.

Eine Verringerung der Toxizität von ALG bei adrenaletomierten Ratten durch die Gabe von Kortikoiden wurde von Baethmann und Kiffner (5, 6, 78) beschrieben. Eine Erklärung dieses Phänomens konnte nicht gefunden werden. Ähnlich detoxifizierende Eigenschaften sind für Steroide in Zusammenhang mit dem experimentellen Endotoxinschock nachgewiesen worden (12, 65).

5. ZUSAMMENFASSUNG

Bei 124 männlichen Sprague-Dawley- bzw. Wistar-Ratten wurde die Überlebenszeit von allogenen Hauttransplantaten nach maximaler Hämodilution (HD) und maximaler Applikation von Antilymphozyten-globulin (ALG) untersucht.

- a) Vorversuche an 28 Tieren ergaben, daß die maximal tolerable ALG-Einzeldosis ohne Zusatztherapie für Ratten bei 400 mg pro kg Körpergewicht (KG) lag.
- b) Die Hämodilution mit Rattenplasma (HD_p) erbrachte keine signifikante Verlängerung der mittleren Transplantatüberlebenszeit (MTÜZ) von allogenen Hauttransplantaten gegenüber den unbehandelten Kontrollen (MTÜZ = 13,1). Durch sie ließ sich auch nicht die gefundene ALG-Einzeldosis von 400 mg pro kg KG erhöhen.
- c) Die Hämodilution mit Dextran 60 (HD_M) wirkte hochsignifikant hauttransplantat-verlängernd, nämlich im Mittel um 7,2 Tage ($2 p < 0,001$). Da dieses Ergebnis mit an Sicherheit grenzender Wahrscheinlichkeit auf verschiedene Dextran 60-Effekte zurückzuführen ist, wurden an Hand der Literatur sowohl die rheologischen als auch die möglichen immunologischen Wirkungen der Hämodilution, im speziellen mit Dextran 60 diskutiert.
- d) Die gefundene maximale ALG-Einzeldosis konnte durch zusätzliche Gabe von 8 mg pro kg KG Prednisolon auf das Dreifache gesteigert werden. Durch diese Dosierung verlängerte sich die MTÜZ der Hauttransplantate hochsignifikant (MTÜZ = 28,3 Tage, $2 p < 0,001$).
- e) Im Vergleich zu wiederholter Gabe niederer Einzeldosen, brachte die einmalige Applikation einer exzessiv hohen ALG-Dosis eine Steigerung der MTÜZ allogener Rattenhauttransplantate um im Mittel 76 % bei gleicher Gesamtmenge. Deshalb wurde für die Ratte eine gewisse "Depotwirkung" einmaliger, sehr hoher ALG-Dosen zur Diskussion gestellt.

- f) Mit der Kombination von 400 mg ALG/kg und Hämodilution mit Dextran 60 wurde ein gleicher transplantatverlängernder Effekt (28,1 Tage) erzielt, wie mit der dreifachen ALG-Dosis (28,3 Tage), die jedoch die Ratten nur mit Kortisonvorbehandlung und dann auch nur zu 30 % überlebten.

6. LITERATURVERZEICHNIS

- (1) Agostini, J.C.,
Ramirez, R.G.,
Albert, S.N.,
Goldbaum, L.R., and
Absolon, K.D.: Successful reversal of lethal carbon monoxide intoxication by total body asanguineous hypothermic perfusion. Surgery, 75: 213 (1974).
- (2) Agyare-Yeboah, F.: Diss. in Vorbereitung, Med. Fak. München.
- (3) Atik, M.: Dextran 40 and Dextran 70. Arch. Surg. 94: 664 (1967).
- (4) Bach, M.K.,
Brashler, J.R.,
Perper, J.R.: Lymphocytophilic antibody titer as a correlative assay for the immunosuppressive activity of antilymphocytic serum. Transplantation. 9: 49 (1970).
- (5) Baethmann, A.,
Land, W.,
Koczorek, K.R.,
Stass, P., and
Brendel, W.: Immunosuppressive Properties of Corticosteroids Part I: Aldosterone as Immunosuppressant in Skin Allografts in Rats. Europ. surg. Res. 3: 40 (1971).
- (6) Baethmann, A.,
Kiffner, E.,
Land, W.,
Stass, P., and
Brendel, W.: Immunosuppressive properties of corticosteroids. II. Interactions of antilymphocyte serum with corticosteroids in adrenalectomized rats. Europ. Surg. Res. 3: 51 (1971).
- (7) Barnes, C.A.,
Ilberty, p. L.T.,
Rickinson, A. B.: Form and function of the lymphocyte as a radiation dosimeter and an indicator of immunosuppression. Med. J. Australia 1: 369 (1971).
- (8) Barth, R.F.,
Southworth, J.,
Burger, G.M.: Studies on heterologous antilymphocyte and antithymocyte sera. I. serologic specificity and immunosuppressive activity of rabbit anti-mouse sera on the primary immune response. J. Immunol. 10 1: 282 (1968).

- (9) Battisto, J.R.,
Pappas, F.: Dextran's regulatory effect on immunoglobulin synthesis is mediated through T-cells.
Cell. Immunol. 10: 489 (1974).
- (10) Battisto, J.R.,
Pappas, F.: Regulation of immunoglobulin synthesis by dextran.
J. Exp. Med. 138: 173 (1973).
- (11) Baxter, J.H.: Role of Ca^{++} in mast cell activation, desensitization and histamine release by dextran.
J. Immunol. 111: 1470 (1973).
- (12) Bein, H.J.,
Jaques, R.: The antitoxic effect of Aldosterone.
Experientia, 16: 1 (1960).
- (13) Ben, M.,
Dixon, R.L.,
Adamson, R.H.: Anesthesia in the rat.
Fed. Proc. 28: 1522 (1969).
- (14) Berenbaum, M.C.,
Brent, L.,
Kilshaw, P.J.: The therapeutic significance of the dose response curve for antilymphocytic serum.
Transplantation. 12: 18 (1971).
- (15) Bienengräber, A.,
Nagel, K.H.,
Ernst, B.: Spezifischer Dextrannachweis durch Fluoreszenzmarkierung. Neue Ergebnisse zur Speicherung und Verteilung von Dextran im Rattenkörper.
Exp. Path. 4: 168 (1970).
- (16) Billingham, R.E.,
Krohn, P.L.,
Medawar, P.B.: Effect of cortisone on survival of skin homografts in rabbits.
Brit. med. J. 1: 1157 (1951).
- (17) Bradfield, J.W.,
Souhami, R.L.,
Addison, I.E.: The mechanism of the adjuvant effect of dextran sulphate.
Immunology 26: 383 (1974).
- (18) Brendel, W.,
Land, W.: Überraschende Ergebnisse durch intravenöse Therapie mit Antilymphozytenserum bei Organtransplantationen.
DMW. 48: 2309 (1968).

- (19) Brendel, W.,
Land, W.: Grundlagen der Therapie mit Anti-
lymphozytenglobulin. aus: "Auto-
immunerkrankungen" Stuttgart -
New York: Schattauer (1969).
- (20) Brendel, W.: Essential improvements in immuno-
suppression by high intravenous doses
of antilymphocyte globulin.
Europ. Soc. Exp. Surg. 4th Congress
(1969).
- (21) Brendel, W.: Intravenous use of high dosage of
ALG.
Laval Médical 41: 255 (1970).
- (22) Brendel, W.: The clinical use of ALG
Transpl. Proc. 1: 280 (1971).
- (23) Brendel, W.,
Seifert, J.,
Lob, G.: Effect of "Maximum Immune Suppression"
with thoracic duct drainage, ALG,
Azathioprine and cortisone in some
neurological disorders.
Proc. Roy. Soc. Med. 65: 531 (1972).
- (24) Brendel, W.,
Ring, J.,
Seifert, J.: Experimental and clinical aspects of
ALG.
Progr. Immunol. II, 5: 245 (1974).
- (25) Brendel, W.,
Seifert, J.,
Ring, J.: Die klinische Anwendung von Anti-
lymphozytenglobulin (ALG).
Münchn. Med. Wochenschr. 117: 1361
(1975).
- (26) Brown, P.B.: The effect of low molecular weight
dextran in the microcirculation of
skin.
Brit. J. plast. Surg. 20: 272 (1967).
- (27) Burri, C. et al.: On the Function of the reticulo-
endothelial system after plasma ex-
panders.
Helv. chir. acta 31: 533 (1964).

- (28) Burri, C., und
Matter, P.: Die Beeinflussung der Durchblutung
in Rundstiellappen durch niedermole-
kulares Dextran (NMD).
Z. ges. exp. Med. 140: 170 (1966).
- (29) Campbell, D.H.,
Garvey, J.S.,
Cremer, N.E., and
Süssdorf, D.H.: Methods in Immunology.
W.A. Benjamin, New York, Amsterdam.
(1964).
- (30) Carson, D.,
Weigert, M.: Immunochemical analysis of the cross-
reacting idiotypes of mouse myeloma
proteins with anti-dextran activity
and normal anti-dextran antibody.
Proc. Natl. Acad. SCI USA, 70: 235
(1973).
- (31) Chakravarty, N.,
Goth, A.,
Sen, P.: Potentiation of dextran-induced hi-
stamine release from rat mast cells
by phosphatidyl serine.
Acta physiol. Scand. 88: 469 (1973).
- (32) Claesson, M.H., and
Ropke, C.: Quantitative studies on cortisol
induced decay of lymphoid cells in
the thymolymphatic system.
Acta path. microbiol. scand. 76:376
(1969).
- (33) Clark, J.G.,
James, K.,
Woodruff, M.F.A.: Elimination of normal horse IgG
labelles with iodine-131 in rats
receiving horse anti-rat lymphocytic
IgG.
Nature 215: 869 (1967).
- (34) Clarke, J.A.,
Salsbury, J.,
Willoughby, D.A.: The effects of various antisera on
the surfaces of sensitised rat
lymph-node cells.
- (35) Cline, R.E.,
Klebanoff, G.,
Armstrong, R.G.,
Standford, W.: Extracorporal circulation in hypo-
thermia as used for total body wash-
out in stage IV hepatic coma.
Ann. Thoracic. Surg., 16: 44 (1973).
- (36) Cornell, R.P.,
Saba, T.M.: Humoral controll of colloid clear-
ance by reticuloendothelial system
in dogs.
Amer. J. Physiol. 225: 1300 (1973).

- (37) Cornell, R.P.,
Saba, T.M.: Bioassay of serum opsonin and its depletion after colloid clearance in dogs.
Amer. J. Physiol. 223: 569 (1974).
- (38) Coutinho, A.,
Moeller, G.,
Richter, W.: Molecular basis of B-cell activation. I. Mitogenicity of native and substituted dextrans.
Scand. J. Immunol. 3: 321 (1974).
- (39) Dalton, R.G.,
Touraine, J.L.,
Anderson, N.F.,
Woodruff, M.F.A.: Effekt of route of administration of anti-lymphocytic globulin on skin allograft survival in rats.
Nature, 225: 1140 (1970).
- (40) Denman, A.M.,
Frenkel, E.P.: II. Changes in the lymphoid cell population in rats treated with antilymphocyte globulin.
Immunology 14: 115 (1965).
- (41) Denman, A.M.,
Frenkel, E.P.: I. The distribution of rabbit anti-lymphocyte globulin injected into rats and mice.
Immunology 14: 107 (1968).
- (42) Denman, A.M.: "Treatment of Dermatomyositis and other connective tissue diseases with ALG".
In: AHLG in clinical practice (eds. R. Roussel u. Mitarb.) London (1975).
- (43) Diamantstein, T.,
Meinhold, H.,
Wagner, B.: Stimulation of humoral antibody formation by polyanions. V. Relationship between enhancement of sheep red blood cell uptake by the spleen and adjuvant action of dextran sulfate.
Eur. J. Immunol. 1: 429 (1971).
- (44) Diamantstein, T.,
Wagner, B.,
Odenwald, H.V.,
Schulz, G.: Stimulation of humoral antibody formation by polyanions. IV. The effects of dextran sulfate on the kinetics of secondary immune response in mice.
Eur. J. Immunol. 1: 426 (1971).

- (45) Diamantstein, T.,
Wagner, B.,
Beyse, I.,
Odenwald, M.V.,
Schulz, G.: Stimulation of humoral antibody formation by polyanions. II. The influence of sulfate esters of polymers on the immune response in mice.
Euro. J. Immunol. 1: 340 (1971).
- (46) Dietzel, E.,
Geiger, H.: Gewinnung und Eigenschaften therapeutisch wichtiger Humanplasmaproteine.
Behring Inst. Mitt. 43: 129 (1964).
- (47) Doerries, R.,
Schimpl, A.,
Wecker, E.: Action of dextran sulfate as a direct and general B-cell mitogen.
Eur. J. Immunol. 4: 230. 3 (1974).
- (48) Dougherty, T.F.,
Berliner, M.L.,
Schneebeil, G.L., and
Berliner, D.L.: Hormonal control of lymphatic structure and function.
Ann. N.Y. Acad. Sci. 113: 825 (1964)
- (49) Eckart, W.: Beeinflussbarkeit der immunolog. Erst- und Zweitreaktion der Ratte durch ein Antilymphozytenserum.
Diss. Med. Fak. München (1968).
- (50) Edberg, S.C.,
Melnick, G.: The allergenic cross-reactivity of antisera made against different molecular weights of a homopolymer dextran.
Experientia 30: 298 (1974).
- (51) Elb, S.,
Arturson, G.: Comparison of physical work capacity in rats following severe Haemodilution with colloid and crystalloid solutions.
Acta anaesth. Scandinav. 13: 103 (1969).
- (52) Eliasson, B.R.G.: Antithrombotic action of dextrans.
Bibl. haemat. 29: 888 (1968).
- (53) Eliasson, R.,
Bygdeman, S.: Effects of dextrans on some platelet function.
Bibl. haemat. 29: 1140 (1968).

- (54) Fiedler, L.: Verzögerung der hyperakuten, xenogenen Abstoßungsreaktion an der extrakorporal perfundierten Schweineniere im Schwein-/Hund-System nach extremer Hämodilution. Diss. Med. Fak. München (1971).
- (55) Fuchs, J.: Über die Behandlung der sympathischen Ophthalmie mit Antilymphozytenserum. Klin. Mbl. Augenheilk. 154: 777 (1969).
- (56) Gerhartz, H.: Die Immunreaktion. Med. Klin. 66: 93 (1971).
- (57) Geyer, R.P.,
Monroe, R.G.,
Tayler, K.: Survival of rats totally perfused with a fluorocarbon detergent preparation. In: Norman: Organ perfusion and preservation, p. 85 (Appleton-Century-Crofts, New York 1968).
- (58) Geyer, R.P.: Bloodless rats through the use of artificial blood substitutes. Fed. Proc. 34: 1499 (1975).
- (59) Grassmann, W.,
Hannig, K.: Ein einfaches Verfahren zur Analyse der Serumproteide und anderer Proteingemische. Naturwissenschaften 37: 496 (1950).
- (60) Gregory, R.J.,
Saumarez, R.: Exchange transfusion in polycythemia. In: Messmer, K., Schmid-Schoenbein, H. (eds.): Intentional Hämodilution. Bibl. Hämatolog. 41: 279 (1975).
- (61) Grogan, J.B.: Alterations in phagocytic function of rats after treatment with antilymphocyte serum. J. Reticuloendothel. Soc. 6: 411 (1969).
- (62) Guiney, E.J.,
Austen, K.F.,
Russell, P.S.: Measurement of serum complement during homograft rejection in man and rat. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 115: 1113 (1964).

- (63) Guttman, R.D.,
Carpenter, C.B.,
Lindquist, R.R.,
Merrill, J.P.: An immunosuppressive site of action
of heterologous antilymphocyte serum.
Lancet I: 249 (1967).
- (64) Haertwig, J.,
Koehnlein, H.E.,
Scherer, D.: Experimentelle Untersuchungen über
den Einfluß der hyperbaren Sauerstoff-
therapie und Dextran 40 auf überle-
bensgefährdete Hautstiellappen.
Chirurg. 44: 452 (1973).
- (65) Hayasaki, H.,
Howard, I.M.: Mechanism of action of D-Aldosterone
in Endotoxin shock.
Surgery 54: 761 (1963).
- (66) Heiss, W.,
Faul, P.,
Pichlmaier, H.: Methode zur nahtlosen Testhaut-
verpflanzung bei Ratten mit einem
neuartigen Gewebeklebstoff.
Zschr. f. Immunitätsforschung u.
Allergieforschung. 129: 288 (1965).
- (67) Hirose, Y.: Studies on the localization of anti-
gens relevant to anti-lymphocytic
serum.
Japan, J. Exp. Med. 6: 445 (1970).
- (68) Hörterer, H.: Untersuchungen zur Wirkung verschiede-
ner Plasmaexpander auf die Funktion
des reticuloendothelialen Systems des
Menschen.
Diss. Med. Fak.Freiburg (1971).
- (69) Holper, K.: Langfristiges Überleben akuter ex-
tremer Hämodilution.
Diss. Med. Fak. (1969).
- (70) James, K.,
Anderson, F.: Effect of anti-rat lymphocyte anti-
body on humoral antibody formation.
Nature 213: 1195 (1967).
- (71) James, K.: The preparation and properties of
anti-lymphocytic sera.
Progr. Surg. 7: 140 (1969).
- (72) James, K.: Effect of antilymphocytic antibody
on humoral antibody formation.
Fed. Proc. 1: 160 (1970).

- (73) Jeejeebhoy, H.F.:

The relationship of lymphopenia production and lymphocyte agglutinating and cytotoxic antibody titers to the immunosuppressive potency of heterologous antilymphocyte plasma.
Transpl. 4: 1121 (1967).
- (74) Jeejeebhoy, H.F.,
Rabbat, A.G.,
Vela-Martinez, J.:

Studies on the mode of action of heterologous antilymphocyte plasma. (ALP).
Transpl. 6: 765 (1968).
- (75) Jeejeebhoy, H.F.,
Rabbat, A.G.,
Vela-Martinez, J.:

Studies on the mode of action of heterologous antilymphocyte plasma (ALP).
Transpl. 6: 765 (1968).
- (76) Jenkin, C.R.,
Rowley, D.:

The role of opsonins in the clearance of living and inert particles by cells of the reticuloendothelial system.
J. exp. Med. 114: 363 (1961).
- (77) Kabat, E.A.,
Mayer, M.M.:

Experimental immunochemistry.
Springfield: Thomas Publ. (1961).
- (78) Kiffner, E.:

Wechselwirkungen zwischen Antilymphozytenserum und der Nebennierenrinde.
Diss. Med. Fak. München (1972).
- (79) Kloevekorn, W.P.:

Die Bedeutung des Intravasalvolumens bei extremer Hämodilution.
Diss. Med. Fak. München (1971).
- (80) Kloevekorn, W.P.,
Laks, H.,
Pilon, R.N.,
Anderson, W.P.,
MacCallum, J.R.,
Moore, F.D.:

Effects of acute hemodilution in man.
Europ. Surg. Res., 5: (Suppl. 2): 27 (1973).
- (81) Kloevekorn, W.P.,
Pichlmaier, H.,
Ott, E.,
Bauer, H.,
Sunder-Plassmann, L.,
Messmer, K.:

Akute präoperative Hämodilution - eine Möglichkeit zur autologen Bluttransfusion.
Chirurg. 45: 452 (1974).

- (82) Kloevekorn, W.P., Austauschtransfusionen mit Kolloiden
Sunder-Plassmann, L., bei akuter Polycythaemie.
Siegler, M., Anaesthesist, 23: 142 (1974).
Messmer, K.:

- (83) Kloevekorn, W.P., Acute preoperative hemodilution surgi-
Pichlmaier, H., cal patients.
Ott, E., In: Messmer, K., Schmid-Schoenbein,
Sunder-Plassmann, L., H. (eds.): Intentional Hemodilution.
Messmer, K.: Bibl. Haematolog. 41: 248 (1975).

- (84) Kreitman, G.: The effect of dextran on the micro-
circulation.
Bull. Hosp. Joint. Dis. 34: 126
(1973).

- (85) Krupp, S.: Die Beeinflussung der Durchblutung
entfetteter, gestielter Hautlappen
durch "delayed-procedure" und NMD.
Helv. Chir. Acta 37: 405 (1970).

- (86) Kuschinsky: Taschenbuch der modernen Arznei-
mittelbehandlung.
G. Thieme Verlag, Stuttgart (1973).

- (87) Hamard, H., Kortikoide und Immunsuppressiva in
Campinchi, R.: der Behandlung der Uveitis.
In: Böke, W.: Kortikosteroide in
der Ophthalmologie S. 221, Berg-
mann, München (1973).

- (88) Humphrey, J.H., Kurzes Lehrbuch der Immunologie.
White, R.G.: Thieme Verlag, Stuttgart (1971).

- (89) Lance, E.M., Intensive immunosuppression in pa-
Kremer, J., tients with multiple sclerosis
Abbosh, J., I. Clinical response.
Jones, V., Clin. exp. Immunol. 21: 1 (1975).
Knight, S.,
Medawar, P.B.:

- (90) Lance, E.M., Antigencity in mice of anti-lympho-
Dresser, D.M.: cyte gamma-globulin.
Nature (London) 215: 488 (1967).

- (91) Lance, E.M.,
Medawar, P.R.,
Nehlsen, S.,
Cooper, S., and
Gunn, A.: Synergistic effects of antilympho-
cyte serum and hydrocortisone on
lymphoid population.
Symp. Ser. Immunobiol. Standardi-
zation: 16 (1971).

- (92) Lance, E.M.: Erasure of immunological memory with
antilymphocyte serum. Nature 217:
557 (1968).

- (93) Lance, E.M.: The mechanism of action of anti-
lymphocyte serum. Studies of anti-
body eluat.
J. exp. Med. 130: 49 (1969).

- (94) Land, W.,
Rudolph, R.,
Brendel, W.: In-vitro-Wirkung eines heterologen
Antiserums auf Lymphozyten der Ratte:
Eine elektronenmikroskopische Studie.
Blut 18: 1 (1968).

- (95) Land, W.,
Rudolph, R.,
Brendel, W.: Stimulating effect of antilympho-
cyte serum on lymphoid cells in vivo:
an electron-, microscopic study.
Surg. Res. Soc. Joint Meeting London
(1969).

- (96) Land, W.: Versuche zur Induktion einer Immun-
toleranz gegen artfremde Gammaglo-
bulinfraktionen als Maßnahme zur
Verhütung von Unverträglichkeits-
reaktionen bei Fremdserumbehandlung.
Habilschr. Med. Fak. München (1971).

- (97) Land, W.,
Rudolph, R.,
Brendel, W.: Ultrastrukturelle Zell- und Organ-
veränderungen nach Verabreichung
eines heterologen Antilymphozyten-
serums bei der Ratte.
Blut 19: 470 (1969).

- (98) Land, W.: Testung der immunsuppressiven Wirk-
samkeit von heterologem Antilymphozy-
tenserum auf eine experimentelle
Autoimmunerkrankung.
aus: "Autoimmunerkrankungen",
Stuttgart - New York: Schattauer
(1969).

- (99) Land, W.,
Brendel, W.: Einige Aspekte zur Therapie mit Anti-
lymphozytenglobulin.
Therapiewoche 21: 534 (1971).
- (100) Laver, M.B.,
Buckley, M.I.,
Austen, W.G.: Extreme hemodilution in man; its
use in conjunction with profound
hypothermia and circulatory arrest
in man.
In: Messmer, K., Schmid-Schoenbein,
H. (eds.): Intentional Hemodilution.
Bibl. Haematolog. 41: 225 (1975).
- (101) Lemperle, G.: Der Funktionszustand des reticulo-
endothelialen Systems bei chirurgi-
schen Erkrankungen.
Habil. Schr. Med. Fak. Frankfurt
(1972).
- (102) Levey, R.H., and
Medawar, P.B.: Nature and mode of action of anti-
lymphocytic antiserum.
Proc. Nat. Acad. Sci., Wash. 56:
1130 (1966).
- (103) Levey, R.H.,
Medawar, P.B.: Further experiments on the action
of antilymphocytic antiserum.
Proc. Nat. Acad. Sci. 58: 470 (1967).
- (104) Ljungqvist, U.,
Bergentz, S.E.,
Claes, G.: Platelet consumption during rejection
of canine renal homograft.
Europ. Surg. Res. 1: 218 (1969).
- (105) Lundin, P.M., and
Schelin, U.: The effect of steroids on the histo-
logy and ultrastructure of lymphoid
tissue. III. Thymus in prolonged
steroid induced involution.
Path. eur. 4: 58 (1969).
- (106) Lundgren, G.: Experience with AHLG Behringwerke in
130 renal transplant recipients.
In: AHLG in clinical practice (eds. R.
Roussell u. Mitarb.) London (1975).
- (107) Marek, H.,
Koch, H.,
Seige, K.: Untersuchungen über Speicherungen
und Ausscheidung von tritium-
markiertem Polyvinylpyrrolidon an
der Ratte.
Z. ges. exp. Med. 150: 213 (1969).

- (108) Meßmer, K.: Die Wirkung hypertoner Lösungen bei Ratten im irreversiblen Schock. Anaesthesist 17: 295 (1968).

- (109) Meßmer, K.,
Sunder-Plassmann, L.,
Klövekorn, W.P.,
Holper, K.: Circulatory Significance of Hemo-dilution: Rheological Changes and Limitations. Adv. Microcirc. 4: 1 (1972).

- (110) Meßmer, K.,
Görnandt, L.,
Jesch, F.,
Sinagowitz, E.,
Sunder-Plassmann, L.,
Kessler, M.: Oxygen transport and tissue oxygenation during hemodilution with dextran. Adv. Exp. Med. Biol. 37B: 669 (1973).

- (111) Meßmer, K.,
Sunder-Plassmann, L.,
Jesch, F.,
Görnandt, L.,
Sinagowitz, E.,
Kessler, M.: Oxygen Supply to the tissues during limited Normovolemic hemodilution. Res. exp. Med. 159: 152 (1973).

- (112) Meßmer, K.: Hemodilution. Surg. Clin. of North America 55: 659 (1975).

- (113) Morgan, J.A.: The influence of cortisone on the survival of homografts of skin in the rabbit. Surgery 30: 506 (1951).

- (114) Murray, I.M.: The mechanism of blockade of reticuloendothelial system. J. Exp. Med. 117: 139 (1963).

- (115) Myers, M.B.,
Cherry, G.: Design of skin flaps to study vascular insufficiency. J. Surg. Research 7: 400 (1967).

- (116) Nicola, A.: Tierexperimentelle Untersuchungen zur Wirkung verschiedener Plasma-expander auf die Funktion des reticuloendothelialen Systems. Diss. Med. Fak. Freiburg (1971).

- (117) Oneal, R.M.,
Knode, R.E.,
Grabb, W.C., und
Dingman, R.D.:
The effect of low molecular weight
dextran on the survival of skin
flaps in pigs vascularized either by
a single artery and vein or by a sub-
dermal plexus.
Plast. reconstr. Surg. 40: 595 (1967).
- (118) Pichlmayr, R.,
Brendel, W.,
Wonigeit, K.:
Blutbildveränderungen nach Gabe
eines heterologen Antihundelympho-
zytenserums.
Z. ges. exp. Med. exp. Chir. 143:
305 (1967)
- (119) Pichlmayr, R.:
Herstellung und Wirkung heterologer
Antihundelymphocytseneren.
Z. ges. exp. Med. 143: 161 (1967).
- (120) Pichlmayr, R.,
Land, W.,
Brendel, W.:
Entwicklung und Anwendung von hetero-
logen Antilymphocytseneren.
Hämatolog. Bluttransfus. 8: 189 (1969).
- (121) Pisano, J.C.,
Patterson, T.,
Diluzio, N.R.:
Depression of phagocytic activity
of the reticuloendothelial system
by antilymphocytic serum.
Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. 132:
517 (1969).
- (122) Pisano, J.C.,
Di Luzio, N.R.:
Purification of an opsonic protein
fraction from rat serum.
J. Reticuloendoth. Soc. 7: 386 (1970).
- (123) Raab, W.:
Pathomechanismen der unerwünschten
Reaktionen bei Gabe von Plasmaer-
satzmitteln.
Klin. Anästhesiologie und Intensiv-
therapie, 9: 48 (1975).
- (124) Reis, H.E.:
Untersuchungen zur Aufnahme, Ver-
teilung, Bindung und Elimination
von Antilymphozytenglobulin.
Habilschr. Med. Fak. Essen (1973).
- (125) Richter, W.,
Kagedal, L.:
Preparation of dextran-protein con-
jugates and studies of their immuno-
genicity.
Int. Arch. Allergy, 42: 887 (1972).

- (126) Richter, W.: Immunologische Untersuchungen von Dextrannebenwirkungen. Klin. Anästhesiologie und Intensivtherapie, 9: 48 (1975).
- (127) Ring, J.,
Seifert, J.,
Lob, G.,
Land, W.,
Coulin, K.,
Brendel, W.: Zum Risiko einer ALG-Therapie. Mögliche Nebenwirkungen, Prophylaxe und Behandlung. Klin. Wschr. 51: 487 (1973).
- (128) Ring, J.,
Lob, G.,
Angsturm, H.,
Brass, B.,
Backmund, H.,
Seifert, J.,
Coulin, K.,
Frick, E.,
Mertin, J.,
Brendel, W.: Intensive immunosuppression in the treatment of multiple sclerosis. The Lancet, p. 1093, November 9, (1974).
- (129) Rolland, J.M.,
Nairn, R.C.: Anti-Lymphocyte-Serum: A review of its immunological effects and therapeutic value. Pathol. 4: 85 (1972).
- (130) Rudolph, R.,
Land, W.,
Brendel, W.: Ultrastrukturelle Zell- und Organveränderungen nach Verabreichung eines heterologen Antilymphozytenserums (ALS) bei der Ratte. Blut 20: 105 (1970).
- (131) Saba, T.M.: Physiology and physiopathologie of the reticuloendothelial system. Arch. Intern. Med. 126: 1031 (1970).
- (132) Saba, T.M.,
Di Luzio, N.R.: Reticuloendothelial blockade and recovery as a function of opsonic activity. Am. J. Physiol. 216: 197 (1969).
- (133) Saeger, O.A.,
Nesmith, M.A.,
Begelman, K.A.,
Cullen, P.,
Noyes, W.,
Modell, J.M.,
Moulder, P.V.: Massive acute hemodilution for incompatible blood reaction. J.A.M.A., 229: 790 (1974).

- (134) Seifert, J.,
Brendel, W.: The effect of antilymphocytic serum on homologous ^{51}Cr -labeled lymphocytes in rats. Transplantation, 8: 806 (1969).
- (135) Seifert, J.,
Brendel, W.,
Land, W.,
Hopf, U.: Die Antigenelimination von Pferde-IgG-I-131 bei Ratten, Hunden und Menschen. Ärztl. Forsch. 26: 242 (1972).
- (136) Sheagren, J.N.: Antilymphocyte blockade of reticulo-endothelial system. Amer. Heart J. 81: 144 (1971).
- (137) Strobel, G.E.,
Wollmann, H.: Pharmacology of anaesthetic agents. Fed. Proc. 28: 1386 (1969).
- (138) Sturgill, B.C.,
Worzniak, M.J.: Stimulation of proliferation of 19S antibody-forming cells in the spleens of immunized guinea pigs after exchange transfusion. Nature. 228: 304 - 5 (1970).
- (139) Sunder-Plassmann, L.,
Klövekorn, W.P.,
Lewis, D.H.,
Meßmer, K.: Die Wirksamkeit kolloidaler Infusionslösungen auf die Dynamik der normalen und gestörten Mikrozirkulation. Langenbecks Arch. Chir. Suppl. Chir. Forum p. 411 (1972).
- (140) Schaer, H.,
Schindler, R.,
Roos, B.,
Cottler, H.: Umsatz von Lymphozyten in Blut- und Lymphknoten der Ratte. Z. Zellforsch. 111: 75 (1970).
- (141) Schapiro, S., and
Huppert, M.: Neonatal cortisol administration and immunological impairment in the adult rat. Proc. Soc. exp. Biol. Med. 124: 744 (1967).
- (142) Schmid, L.: Die Wirkung verschiedener Dextranfraktionen auf die Endotoxinresistenz der Maus. Helv. Chir. Acta 35: 378 (1968).

- (143) Schobinger, R.A.: Possible indications for low molecular weight dextran (Rheomacrodex) in plastic surgery. Excerpta Medica International Congress Series No. 98 (1965).
- (144) Taylor, H.F.: The clinical application of anti-lymphocyte globulin. Med. Clin. North America. 56: 419 (1972).
- (145) Trepel, F.,
Pichlmayr, R.,
Kimura, J.,
Brendel, W.,
Begemann, H.: Therapieversuche mit Antilymphocytenserum bei Autoaggressionskrankheiten des Menschen. Klin. Wochenschr. 46: 856 (1968).
- (146) Tsirimbas, J.G.,
Pichlmayr, R.,
Hornung, B.,
Pfisterer, H.,
Thierfelder, S.,
Brendel, W.,
Stich, W.: Therapeutische Wirkungen von heterologem Antihuman-Lymphozytenserum AHLG bei chronischer lymphatischer Leukämie. Klin. Wschr. 46: 583 (1968).
- (147) Turk, J.L.,
Willoughby, D.A.: Central and peripheral effects of antilymphocyte sera. Lancet 1: 249 (1967).
- (148) Tyler, R.W.,
Everett, N.B.,
Schwarz, M.R.: Effect of Antilymphocytic serum on rats lymphocytes. J. Immunol. 102: 179 (1969).
- (149) Vachek, H.,
Koelsch, E.: Dextran sulfate stimulates the induction but inhibits the effector phase in T-cell-mediated cytotoxicity. Transplantation 19: 183 (1975).
- (150) Wakabayashi, A.,
Kubo, T.,
Gilman, P.,
Charney, K.,
Conolly, J.E.: Total body washout and ex vivo liver perfusion in acute hepatic failure. Arch. Surg., 109: 52 (1974).

- (151) Weichselbaum, T.E.: An accurate and rapid method for determination of proteins in small amounts of blood serum and plasma. Amer. J. clin. Path. 10: 40 (1946).
- (152) Weitzel, H.K.: Studies on the role of serum complement in allograft rejection and in immunosuppression by antithymocyte serum (ATS). Europ. Surg. Res. 1: 210 (1969).
- (153) Wilkins, D.J.,
Myers, P.A.: Studies on the relationship between the electrophoretic properties of colloids and their blood clearance and organ distribution in the rat. Brit. J. Exptl. Pathol. 47: 568 (1966).
- (154) Wilkinson, T.S.,
Black, W.S.,
Sutterfield, F.C.,
Stone, H.H.: Experimental prophylaxis and treatment of venous thrombosis with Dextran 75. J. Surg. Research 7: 464 (1967).
- (155) Wittmann, G.,
Dietzschold, B.,
Bauer, K.: Some investigations on the adjuvant mechanism of DEAE dextran. Arch. Virol. 47: 225 (1975).
- (156) Young, D.A.: Glucocorticoid action on rat thymus cells. Interrelationship between carbohydrate, protein and adenine-nucleotide metabolism and cortisol effects on these functions in vitro. J. biol. Chem. 244: 2210 (1969).
- (157) Zink, R.A.: Kinetik und Antigenizität von xeno-genem Antilymphozytenglobulin und Normalglobulin. Diss. Med. Fak. München (1974)
- (158) Zollinger, H.U.: Pathologische Anatomie, Band 1: Allgemeine Pathologie. Thieme Verlag, Stuttgart (1969)

7. ANHANG

7.1. D a n k s a g u n g

Herrn Professor Dr. Dr. W. Brendel danke ich für die Überlassung des Themas, sowie für seine Ratschläge im Verlauf der Arbeit.

Für zahlreiche theoretische Hinweise und praktische Anregungen gilt mein besonderer Dank Herrn Professor Dr. K. Meßmer.

Ferner danke ich sämtlichen Damen und Herren des Institutes für Chirurgische Forschung, München, die durch ihre Mithilfe das Zustandekommen dieser Arbeit ermöglicht haben.

7.2. Lebenslauf

Am 21. 9. 1949 wurde ich als zweites von vier Kindern des Professor Dr. med. Dietrich Vogt und seiner Ehefrau Eva, geb. Hoppe, in München geboren.

Von 1955 - 1959 besuchte ich die Volksschule in München. 1959 trat ich in das Städtische Luisengymnasium in München ein, wo ich im Juli 1968 die Reifeprüfung ablegte. Im Wintersemester 1968/69 begann ich das Medizinstudium an der Universität München, wo ich 1969 das Vorphysikum, 1971 das Physikum und im Juni 1974 das Staatsexamen bestand.

Während meines klinischen Studiums erfolgten Famulaturen an der Chirurgischen Klinik, der Medizinischen Poliklinik und der Augenklinik der Universität München, außerdem an dem Touro-Infirmiry in New Orleans.

Die Medizinalassistentenzeit verbrachte ich an der Augenklinik und dem Institut für Chirurgische Forschung der Universität München, der Internen und Chirurgischen Abteilung des Kreiskrankenhauses Garmisch-Partenkirchen. Die Approbation erlangte ich im Oktober 1975.

Seit dem 16. Januar 1976 bin ich als Assistenzärztin an der Augenklinik der Universität München tätig.

